C. OPPENHEIMER,

DIE FERMENTE
UND
IHRE WIRKUNGEN.



A. C. Crawford

DIE FERMENTE

UND

IHRE WIRKUNGEN

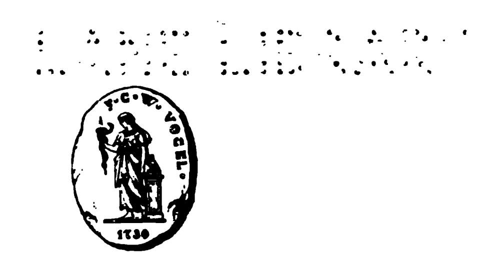
VON

CARL OPPENHEIMER,

DR. PHIL. ET MED.,

ASSISTENT AM THIERPHYSIOL. INST. D. LANDWIRTH. HOCHSCH. BERLIN.

ZWEITE NEUBEARBEITETE AUFLAGE.



LEIPZIG

VERLAG VON F. C. W. VOGEL.

1903.

Vorwort zur zweiten Auflage.

Ich habe mit um so grösserer Lust und Liebe die Gelegenheit ergriffen, mein Buch neu zu bearbeiten, als mir dadurch gleichzeitig die Freude zu Theil wurde, einen in der ersten Auflage begangenen Irrthum, betreffend die Umkehrbarkeit der Enzymreactionen, corrigiren zu können. Ich habe mich jetzt in allen wesentlichen Punkten auf den Boden der Ostwald'schen Anschauung, dass die Enzymreactionen zu den katalytischen gehören, gestellt, ohne indessen die bedingungslose Identificirung im Sinne Bredig's gut zu heissen. Innerhalb des Rahmens der katalytischen Reactionen zeigen doch die Fermente noch Besonderheiten, die eine etwas abweichende Stellung bedingen.

Entsprechend den enormen Fortschritten, welche gerade dieses Gebiet in den letzten Jahren aufzuweisen hat, sind die meisten Capitel dieses Buches beträchtlich verändert und erweitert worden, besonders die über proteolytische Fermente, wobei die Fischer'schen Eiweissspaltungen, die Enterokinase, das Erepsin und die Plasteïnfrage ausführlichere Erörterungen verlangten. Neu hinzu kam ein Capitel über Fibrinferment.

Formelle Aenderungen sind in Bezug auf die Litteraturangaben insofern eingetreten, als ich an Stelle des systematischen Registers der I. Auflage es vorgezogen habe, die gesammte Litteratur am Schluss des Werkes in Form eines nach Autorennamen geordneten Registers zusammenzufassen, was das Nachschlagen einer gesuchten Arbeit sehr erleichtern dürfte. Bei der Gelegenheit habe ich die Titel der Arbeiten, soweit sie mir ohne besondere Schwierigkeit noch zugänglich waren, ergänzt. Bei dieser mühevollen Arbeit bin ich von Herrn cand. med. W. Wolff in geschickter und umsichtiger Weise unterstützt worden, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen besten Dank ausspreche. Ferner danke ich allen Autoren, die mir meine Arbeit durch Uebersendung von Separatabdrücken ausserordentlich erleichtert haben.

Berlin, Juli 1903.

Carl Oppenheimer.

Inhaltsverzeichniss.

Allgemeiner Theil.

Specieller Theil.

Einleitung.

Erstes Capitel.

Die Beschäftigung mit den „Fermenten und ihren Wirkungen" hat seit der Zeit, da sie zuerst bekannt wurden, das gemeinsame Arbeitsgebiet für fast alle Zweige der Biologie gebildet. Spielen doch derartige Processe überall dort ihre gewichtige Rolle, wo überhaupt Leben sich regt. Alle Probleme der thierischen und pflanzlichen Energieumsetzungen, d. h. des Lebens, sind in irgend welcher Weise verknüpft mit der Lehre von den „Fermenten". Beide Erscheinungen, der Lebensprocess und die Fermentwirkungen, beeinflussen sich gegenseitig in mannigfaltiger, vielfach noch dunkler Weise. Ueber die Bedeutung aber und den Umfang der gegenseitigen Einwirkungen beider Phänomene ist eine Uebereinstimmung noch leider nicht im mindesten erzielt.

Es ist aber unmöglich, die biologisch so wichtige Frage nach der Beziehung der Fermente zum Leben mit Erfolg anzugreifen, ehe man nicht über den Begriff des „Fermentes" selbst und der Fermentationen zu einer einheitlichen Auffassung gelangt ist. Nun hat aber dieser Begriff im Laufe der Jahrhunderte zahlreiche Wandlungen durchgemacht; sein Umfang ist häufig erweitert, eingeschränkt und wiederum erweitert worden. Trotz aller dieser Bemühungen ist er auch heute noch erst zu einer gewissen Klarheit durchgekämpft worden: aber eine wirkliche Uebereinstimmung darüber, was ein fermentativer Process ist, und welche Erscheinungen man darunter zusammenzufassen hat, ist auch heute noch nicht erzielt.

Indessen ist vielleicht gerade jetzt die Zeit gekommen, wo die Grundlagen für diese erstrebenswerthe einheitliche Auffassung gegeben sind. Gerade die letzten experimentellen Befunde erscheinen geeignet, trennende Schranken, die ihr bisher im Wege standen, nieder zu reissen und Raum zu schaffen für einen neu zu gewinnenden höheren Standpunkt, von dem aus die bisherigen Resultate inductiv concentrirt

werden könnten zu einem geschlossenen Lehrgebäude „von den Fermenten und ihren Wirkungen“.

Wenn wir nun diesen Versuch machen wollen, die Lehre von den Fermenten und ihren Wirkungen unter einen einheitlichen Gesichtspunkt zu bringen, so ist es unumgänglich nöthig, die historische Entwicklung dieses und der mit ihm in Beziehung gebrachten Begriffe wenigstens in ihren Grundzügen zu betrachten, um unter kritischer Beleuchtung seiner zahlreichen Umwandlungen zu einem Resultate zu gelangen.

Der Begriff der „Fermentatio“ reicht bis in das Alterthum zurück.

Die Kenntniss der praktischen Bedeutung gewisser Gährungserscheinungen, besonders der alkoholischen Gährung des Zuckers, war fast sämmtlichen Völkern zu allen Zeiten bekannt. In Folge dessen ist der Name „Fermentatio“, den wir in dieser ersten Bedeutung ungefähr mit unserem deutschen Wort „Gährung“ im populären Sinne gleichsetzen dürfen, schon in früher Zeit Allgemeingut nicht nur der Gelehrten gewesen. Eine irgendwie wissenschaftliche Fragestellung auf diesem Gebiete finden wir indessen im Alterthum nirgends.

Bald auch begann nunmehr die Confundirung der verschiedenartigsten Vorgänge unter dem Begriff der Fermentation, die sich dann das ganze Mittelalter hindurch fortsetzt und auch heute noch nicht beseitigt ist.

Einmal gewöhnte man sich, den Begriff der „Fermentatio“ in seinem etymologischen Sinn[1]) auf alle Reactionen, die mit ähnlichen sichtbaren Gasentwicklungen einhergingen, ohne Weiteres anzuwenden; andererseits brauchte man Putrefactio „Fäulniss“ und Fermentatio als völlige Synonyma.

Man ging dann in der Verallgemeinerung noch weiter und strebte schliesslich dahin, alle chemischen Vorgänge in der Universalrubrik der „Fermentwirkungen“ unterzubringen. Dann verstand man ausserdem noch unter Ferment eine geheimnissvolle Lebenskraft, den „Lapis philosophorum“ und was der Confusion aller möglichen Dinge mehr war.

Im Wesentlichen indess blieb der Name Fermentation für die Processe, die mit Gasentwicklung einhergehen, so dass Hales und van Helmont[2]) selbst Oxydationen mit Salpetersäure und das

1) Es hängt wahrscheinlich mit fervere „wallen, sieden“ zusammen (vgl. A. Mayer, Gährungschemie, Anm. auf S. 7).

2) Ich folge bei der Besprechung der älteren Periode im Wesentlichen dem monumentalen Werke von Kopp, Geschichte der Chemie IV. S. 285 ff.; s. a. Schützenberger, Die Gährungserscheinungen. Internat. wiss. Bibl. 1875. S. 10 ff.

Aufbrausen von Carbonaten in Säuren als „Fermentationen" beschrieben.

Diese letzte Consequenz der rein äusserlichen Betrachtung der Fermentwirkungen wurde freilich bald widerlegt, indem zuerst Sylvius de la Boë auf den durchgreifenden Unterschied zwischen Kohlensäureentwicklung aus Carbonaten und Gährung hinwies.

Durch Lemery wurde dann bekannt, dass der Alkohol erst nach dem Gährprocess vorhanden sei, im Gegensatz zu der früheren Angabe von Basilius Valentinus, der die Gährung nur als einen Reinigungsprocess des schon vorhandenen Alkohols aufgefasst hatte.

Becher wies dann gleichfalls nach, dass der Alkohol erst bei der Gährung entsteht, und zwar nur aus süssen Stoffen; er zieht Analogien zwischen Gährung und Verbrennung und unterscheidet zwischen Gährung und Fäulniss, und zwischen der echten („geistigen") Gährung und der „sauren" Gährung (Milchsäurebildung u. s. w.). Stahl, der Begründer der Phlogistontheorie, beschäftigte sich ebenfalls mit dem Wesen der Gährung.

Er schrieb dem „Ferment" eine innere Bewegung zu, die es durch Ansteckung auch auf bis dahin ruhende Körper übertragen und dadurch auch diese zum Zerfall bringen könnte. Aehnlich äusserte sich Willis. Der Standpunkt Stahl's wurde allgemein acceptirt. Man nahm also ein, um modern zu sprechen, kraftübertragendes Etwas, das „Ferment" an, das ruhende Atomcomplexe in Erschütterung versetzt und zersplittert. Irgend welche chemische Vorstellungen konnten sich bei dem damaligen Stand der Kenntnisse daran natürlich nicht schliessen. Man unterschied nur grob zwischen geistiger, saurer und fauliger Gährung.

So standen die Dinge, als Lavoisier auftrat. Seine epochemachenden Arbeiten über die Bedeutung des Sauerstoffs für das Leben und seine Schöpfung der quantitativen Chemie mussten auch die Lehre von den Gährungen von Grund aus umwälzen.

Lavoisier sprach es klar aus, dass die weinige Gährung darin besteht, dass der Zucker eine chemische Spaltung in Alkohol und Kohlensäure erleidet. Er sagt ferner, dass dieser Process theoretisch umkehrbar sei, und bemerkt, dass auch der Alkohol noch Sauerstoff enthielte.

Für das schaffensfreudige, experimentirfrohe Geschlecht, das auf den von Lavoisier gelegten Fundamenten das Gebäude der modernen Chemie errichtete, war für so dunkle naturphilosophische Gebilde, wie der „Fermentprocess" sich darstellte, kein Interesse vorhanden. Lavoisier selbst nahm die Existenz eines solchen „Fermentes" einfach zur Kenntniss und beschäftigte sich rein mit dem Chemismus der

Reaction, dem äusserlich erkennbaren Resultat, ohne sich um die Ursache irgend welche Sorge zu machen. Und gerade so machten es seine nächsten Nachfolger, speciell Gay-Lussac. Bei allem Eifer in der Erforschung des chemischen Vorgangs bei der Alkoholgährung war das Thema „Ferment" eigentlich aus der Discussion verschwunden.

Natürlich ist das cum grano salis aufzufassen. Wir werden bei der Geschichte der alkoholischen Gährung noch sehen, dass für die Erklärung der Hefewirkung manche Combinationen gemacht worden sind, aber eine eigentliche Theorie der Vorgänge versuchte man garnicht. Als eine solche ist auch nicht die Ansicht von Gay-Lussac[1]) aufzufassen, dass der Sauerstoff allein die auslösende Macht der alkoholischen Zuckerspaltung sei, da er auch in der Hauptsache nur annahm, dass das Ferment durch Sauerstoff entsteht. Damit erklärte er also nicht die erst dann einsetzende Fermentwirkung.

Und wenn später Berzelius und Mitscherlich[2]) die Gährung auf eine „katalytische" oder „Contact"wirkung zurückführen wollten, so haben sie nur einen neuen Namen für eine unbekannte Grösse gegeben.

Auch vereinzelte andere Versuche, die Gährung durch chemische oder electrische Theorien erklären zu wollen (Meissner, Colin etc.)[3]), haben keine Bedeutung.

Inzwischen wurde der Kreis der Phänomene wesentlich erweitert durch das Auffinden von anderen organischen Stoffen, die auch derartige „Contactwirkungen" auslösten.

Robiquet fand in dem Samen der bitteren Mandeln einen „albuminoïden" Stoff, der die Eigenthümlichkeit besass, aus dem ebendarin vorkommenden Amygdalin Blausäure und Zucker abzuspalten. Dies wirksame Princip wurde dann von Liebig und Wöhler genauer untersucht und Emulsin genannt. Bald darauf fand man andere ähnliche Agentien: Durch Eberle und Schwann wurde das Pepsin, durch Corvisart das Trypsin entdeckt; Payen und Persoz fanden die stärkelösende Diastase etc.

Auch diese Stoffe bezeichnete man als „Fermente" und hielt sie für Eiweisssubstanzen, die katalytische Wirkungen ausüben könnten. Mit dem eifrigen Studium dieser Erscheinungen trat nun auch die theoretische Seite dieser Fragen wieder mehr in den Vordergrund, und es war der Boden geschaffen für eine „Theorie der Fermente", die

1) Gay-Lussac. Ann. d. Chim. 76. 247 (1810).

2) Mitscherlich, Liebig's Ann. XVI.; s. a. Berl. Acad. Sitzb. **1841**. 379; **1842**. 147.

3) s. b. Balling, Gährungschemie. 1845. I. S. 155; cit. n. Mayer l. c.

diese verschiedenartigen Processe von einem einheitlichen Gesichtspunkt aus erläutern sollte.

So gelangen wir denn zu der ersten wirklichen Theorie der Fermentwirkungen, die eine einheitliche Auffassung ermöglichte, der Zersetzungstheorie von Liebig[1]), die zwar in Einzelheiten häufig von ihm modificirt wurde, doch stets den Kern enthält, dass alle Fermentationen aufzufassen seien als Fortleitung einer Erschütterung der Molecüle, die zum Zerfall führt, und die hervorgerufen wird durch eine chemische Zersetzung des fermentirenden Materials. So wird die Fäulniss weitergeführt durch die sich zersetzenden Eiweisskörper, die alkoholische Gährung durch die Zersetzung der Hefe, die Eiweisszersetzung durch das Pepsin durch den Zerfall dieser albuminoïden Substanz etc.

Wir finden also in der Liebig'schen Anschauung zum ersten Mal seit Stahl eine energetische Auffassung der Vorgänge, und deshalb ist sie von eminenter Bedeutung, wenn sie sich auch in der Art der Erklärung: der Herbeiführung der molecularen Gleichgewichtsstörung durch einen chemischen Zersetzungsvorgang, als durchaus unhaltbar erwies. Eine chemische Zersetzung der Fermente lässt sich ohne Weiteres ablehnen: die Hefe sowohl, als auch die albuminoïden Substanzen werden bei den von ihnen veranlassten Umsetzungen im Grossen und Ganzen nicht chemisch verändert. Weiterhin trugen besonders die Arbeiten von Dumas[2]) zum Sturze der Liebig'schen Theorie bei, der nachwies, dass die Fermentation nur bei unmittelbarster Berührung des Fermentes mit seinem Substrat eintritt, dass ferner andere Bewegungen, speciell Schallschwingungen, auf die Zersetzung ohne Einfluss sind.

Die Liebig'sche Theorie sollte für alle Fermentprocesse gelten, die sie nur als Theilerscheinung der allgemeinen durch Zersetzung fortgeleiteten katalytischen Processe hinstellte, also sowohl für die alkoholische Gährung und Milchsäuregährung des Zuckers, wie für die Wirkungen der „albuminoïden“ Substanzen.

Von den zahlreichen Beispielen, die Liebig als Analogie heranzog, sei nur eins erwähnt, das seine Anschauungsweise deutlich kennzeichnet: Platin als solches ist gegen Salpetersäure unempfindlich. Bringt man dagegen eine innige Legirung von Platin und Silber mit Salpetersäure zusammen, so löst sich das Silber und überträgt seine Zersetzung auf das Platin, das nun ebenfalls sich in Salpetersäure löst.

1) Liebig, s. z. B. seine Ann. 60. 1 und die „Chemischen Briefe“. 1865. 21. Brief; ferner Liebigs Ann. 153. 1. (1870).

2) Dumas, Ann. d. chim. et phys. (5) III. 59. (1874).

In dieser Art wollte nun Liebig auch die Zersetzung der Fermente als Ursache der Zersetzung ihrer Substrate betrachtet wissen.

Als kurz darauf durch die klassischen Untersuchungen Pasteur's der Beweis geführt wurde, dass die alkoholische Gährung und mehrere andere Fermentprocesse im engsten Connex mit der Lebensthätigkeit von niederen Organismen stehen, da gewöhnte man sich, diese Processe als die Thätigkeit „geformter“ oder „organisirter“ Fermente von denen zu trennen, die ohne Contact mit lebenden Zellen wirken, und die man als „ungeformte Fermente“, später mit Kühne als Enzyme bezeichnete, wie Pepsin, Diastase, Emulsin etc.

Was die geformten Fermente anbetrifft, so wurde Liebig's Theorie durch die Auffindung der gewaltigen Rolle, welche Mikroorganismen bei der alkoholischen Gährung, der Fäulniss etc. spielen, um so wirksamer in den Hintergrund gedrängt, als Liebig sich nicht dazu entschliessen konnte, diese Bedeutung der lebenden Zelle anzuerkennen. Dadurch wurde auch die Bedeutung seiner Theorie für die ungeformten Fermente discreditirt. Wir werden die Entwicklung dieser Frage bei der Geschichte der alkoholischen Gährung genauer zu schildern haben; für die Ausbildung des Begriffes „Ferment“ im Allgemeinen musste natürlich die rein biologische Auffassung Pasteur's, dass die Alkoholgährung ein „Leben der Hefe ohne Sauerstoff“ sei, ein gewaltiges Hinderniss darstellen.

Damit war eigentlich eine völlige, principielle Trennung der „geformten“ Fermente von den „Enzymen“ entschieden, und nur dem Gesetz der Trägheit danken wir es, dass man sich nicht auch schon damals zu einer formellen Trennung und dem Aufgeben eines einheitlichen Fermentbegriffes entschloss, wozu gelegentliche Ansätze oft genug gemacht worden sind.

Die Pasteur'sche Anschauung, dass die Gährungserscheinungen einfach dem Stoffwechsel der Mikroorganismen zuzuweisen seien, hat bis vor kurzem bei der Mehrzahl der Fachgenossen Geltung besessen. Allerdings war der Gedanke der Einheitlichkeit zwischen Enzymen und geformten Fermenten nicht von Allen aufgegeben worden. Besonders Berthelot, Traube und Hoppe-Seyler haben stets nachdrücklich den Standpunkt verfochten, dass auch in den lebenden Zellen wirkliche Enzyme wirksam seien, ganz vergleichbar den ausserhalb der Zelle wirkenden und nur graduell von diesen verschieden; doch gelang es ihnen nicht, solche Enzyme zu isoliren, und dieser Umstand wurde ihnen von den Gegnern stets wieder vorgehalten.

Wir werden später sehen, dass auch hier die Wahrheit in der Mitte beider Anschauungen liegt. Pasteur behält insofern Recht, als

es thatsächlich unter den früher mit dem Namen „Fermentprocesse" bezeichneten Vorgängen viele giebt, die nur vom rein biologischen Standpunkt, als dem Stoffwechsel der Mikroben angehörend, aufgefasst werden können, während andere, von denen Pasteur dasselbe annahm, dem entgegen sicher enzymatisch sind.

Nun sind aber diese Anschauungen zwar für das Verhältniss der beiden Arten von Fermenten wichtig, geben aber leider keine Theorie der Fermentwirkungen; Traube und Hoppe-Seyler nahmen eben nur engere Beziehungen beider Gruppen an, ohne aber einen Versuch der Erklärung der Wirkung zu machen. Pasteur's rein biologische Auffassung selbst als richtig angenommen, so wurde doch seine Theorie: die Hefe entziehe nur bei Abwesenheit von atmosphärischem Sauerstoff dem Zucker einen Theil seines Sauerstoffs, der dann durch ihre „Athmung" als Kohlensäure wieder erscheint; die Gährung sei eine „vie sans air", bald als falsch widerlegt, da Hefe auch bei Anwesenheit von Sauerstoff gährt.

So war denn die Liebig'sche Theorie der Fermentationen durch fortgeleitete Zersetzung zwar als falsch erwiesen, aber keine neue an ihre Stelle gesetzt. Dies wurde erst durch Hüfner[1]) wieder versucht und dann besonders von Naegeli[2]) in seiner molecularphysikalischen Theorie.

Naegeli that den bedeutungsvollen Schritt, an Stelle der Liebigschen chemischen Zersetzung die moleculare Schwingung zu setzen. Er nahm an, dass die schwingenden Bewegungen der Molecüle oder der Atome im Molecül durch die entsprechenden Schwingungen einer der ersten zugefügten Substanz so verstärkt werden können, dass durch den blossen Contact mit dieser Substanz ein Zerfall der Molecüle der ersten Substanz eintritt, ohne dass die zersetzende („katalytische") Substanz selbst davon beeinträchtigt würde.

Naegeli hat im Wesentlichen diese Theorie für die geformten Fermente durchgeführt, in der Art, dass eben das lebende Protoplasma besonders energische Atomschwingungen auslösen könnte. Doch hätte er mit grosser Leichtigkeit diese plastische Anschauungsweise auf alle Fermente übertragen und so eine einheitliche Vorstellungsform der Fermentwirkungen geben können.

Diesen Schritt that er leider nicht. Er wollte zwar auch die Enzymwirkung analog erklären, hielt sie aber für völlig verschieden von der „vitalen" Gährung. Kurzum, Naegeli hielt trotz seiner rein energetischen Theorie streng an einem tiefgreifenden Wesens-

1) Hüfner, J. pr. Ch. N. F. X. 148. 385 (1874).
2) Naegeli, Theorie der Gährung. München 1879.

unterschied zwischen den ungeformten und geformten Fermenten fest. Für Naegeli beruht dieser Gegensatz darauf, dass die Enzyme gesondert von der Zelle wirken, die Gährungserscheinungen nur im unmittelbaren Contact mit der lebenden Zelle vor sich gehen. Er documentirt sich ferner darin, dass die Enzyme die Eigenschaft haben, unlösliche und für den Stoffwechsel untaugliche Stoffe in resorbirbare „Ernährungsstoffe" umzuwandeln, während im Gegensatz dazu die geformten Fermente die physiologische Brauchbarkeit dieser Stoffe herabsetzen. So wichtig dieser Unterschied für die Fragen der Biologie sein mag, so ist er doch für die Betrachtung der Fermentvorgänge vom rein theoretischen Standpunkte aus völlig belanglos. Wir könnten uns ebenso gut Enzyme vorstellen, die ebenfalls gute Nährstoffe in schlechtere umwandeln, und geformte Fermente, die z. B. die Cellulose in resorbirbare Zucker verwandeln. Im Uebrigen sieht Naegeli in diesem von ihm betonten Unterschiede wohl nur den teleologisch gefassten Ausdruck wirklicher Wesensunterschiede. Der tiefer liegende Urgrund der Trennung ist die unlösbare Verknüpfung der einen Vorgänge mit der lebenden Zelle, während die Enzyme von dieser unabhängig ihre Wirkungen ausüben können; wenn er auch im Gegensatz zu Pasteur die Wirkung der geformten Fermente nicht geradezu mit dem Stoffwechsel identificirt.

Es war also bei dem damaligen Stande der Kenntnisse thatsächlich sehr schwer, einer einheitlichen Auffassung des Fermentbegriffes Raum zu geben.

Auch der Gedanke von Loew[1]), dass den Enzymen noch „ein Rest der im lebenden Protoplasma wirksamen Kräfte anhaften könnte", ist viel zu vage, um näher discutirt werden zu können. Aehnlich stellt auch Medwedew[2]) die Wirkung der thierischen Oxydasen als Reste [illegible] Kräften vor. Auch Andere, so A. Mayer[3]), vertreten ähnliche Ansichten. Besonders in Bezug auf die Buchner'sche Zymase sind derartige Vorstellungen mehrfach aufgetaucht. Die radicale An[illegible], der den Fermenten direct vitale Eigenschaften [illegible] uns noch beschäftigen.

[illegible] in gewissem Sinne berechtigt, dass Hansen[4]) den [illegible] einfach dadurch zu lösen vorschlug, dass man den [illegible] eigentlich nur der historischen Entwicklung zu [illegible] ungeformten und geformten Fermenten geknüpft [illegible] einer principiellen Scheidung durchtrennen

1) [illegible] S. 210.
2) [illegible] 249. (1897).
3) [illegible] Heidelberg 1882.
4) [illegible] Institut. Würzburg. III.

soll. Er hält es für das Beste, den Begriff „Ferment" überhaupt fallen zu lassen, und zu unterscheiden zwischen der Wirkung der Enzyme, die der lebenden Zelle nicht bedürfen, und dem Bereiche der Gährungserscheinungen, die als Unterabtheilung dem Stoffwechsel der Organismen zu subsumiren sind. Man verzichtet dann also auf eine energetische Betrachtungsweise der Fermentprocesse und schiebt als Ausgangspunkt der Auffassung die biologische Frage in den Vordergrund. Wenn es nicht gelänge, den Unterschied zwischen „lebenden" und „toten" Fermenten zu überbrücken und Raum zu schaffen für eine einheitliche energetische Auffassung, so wäre diese Anschauung in der That berechtigt und für die Klarstellung der obwaltenden Probleme von grosser Fruchtbarkeit.

Dass aber diese Kluft überbrückbar ist und es wohl gelingen kann, den Fermentbegriff als solchen beizubehalten und einheitlich zu umgrenzen, hat sich aus der neuesten Entwicklung dieser Fragen ergeben.

Dass der Unterschied zwischen den fermentativen Wirkungen der Enzyme und der lebenden Zelle kein so fundamentaler sein möge, darauf deuten schon verschiedene Thatsachen hin, die in dieser Beziehung zu wenig beachtet sind. Es lässt sich nämlich eine so wirklich haarscharfe Grenze zwischen den von der Zelle an die umgebenden Medien abgegebenen Enzymen und den anderen, ganz fest an ihr haftenden Fermenten garnicht ziehen. Während die gesunde, lebende Zelle nur gewisse Enzyme einfach secernirt, hält sie unter normalen Bedingungen eine Reihe anderer Fermente fest. Tötet man aber die Zelle, oder schwächt man selbst nur ihre Vitalität, so geht ein Theil dieser Fermente in die umgebenden Medien über und wirkt nunmehr, losgelöst von der Zelle, als echtes Enzym (z. B. Hefeninvertase). Man kann nicht leicht entscheiden, ob man diese Fermente den Enzymen oder den geformten Fermenten zuschreiben soll, das sie ja unter normalen Bedingungen nur innerhalb der Zelle im Protoplasmaverband wirken, einmal losgelöst aber doch unabhängige Eigenkräfte entfalten. Und noch viel mehr erwächst diese Schwierigkeit, wenn wir Enzyme finden, die auf keine Weise aus der Zelle herauszubekommen sind, aber doch unabhängig von der Vitalität der Zelle wirken, da sie auch ihre Thätigkeit entfalten, wenn man die Lebensenergie der Zelle durch Protoplasmagifte ausschaltet, wie dies von dem invertirenden Ferment der Monilia candida und auch in gewisser Weise von den Endoenzymen thierischer Organe gilt.

Einen Hinweis darauf, dass die Fermentwirkungen doch nicht direct mit dem Lebensprocess zu identificiren seien, lieferte auch die inter-

[illegible]essante Beobachtung von Fiechter[1]), dass Blausäure zwar den Lebensprocess und die Entwicklung der Hefe völlig aufhebt, dass aber bei Gegenwart beträchtlicher Hefenmengen die Fermentwirkung nicht sofort inhibirt wird.

Andererseits giebt de Bary[2]) an, dass man Bacillus amylobacter kurze Zeit mit Glucoselösung kochen kann (einige Minuten), ohne dass er die Fähigkeit der Fortpflanzung verliert, wohl aber seine gährende Kraft. Dasselbe kann man erreichen, wenn man ihn durch viele Generationen auf solchen Nährböden cultivirt, in denen er keine Gährthätigkeit entfalten kann. Aehnlich kann man manchen Mucor-Arten ihre Gährfähigkeit entziehen, ohne ihre vitale Kraft zu schwächen.

In Würdigung dieser eigenartigen Thatsachen macht Green[3]) einen neuen Versuch, die Einheit des Fermentbegriffes zu bewahren, indem er zwar, was unbedingt nöthig, den Wesensunterschied zwischen Enzymen und geformten Fermenten fallen lässt, aber nunmehr alle Fermentwirkungen als Lebensprocesse anzusehen geneigt ist und sie ausschliesslich in ihrer Beziehung zum lebenden Protoplasma würdigt. Dieser Versuch scheint mir nicht geeignet, das Problem zu lösen.

Zunächst ist mit dieser rein biologischen Anschauung für das Verständniss der Fermentationen gar nichts gewonnen. Während die radicale Abtrennung der Enzyme im Sinne Hansen's wenigstens für dieses beschränktere Gebiet Bahn schafft für eine rein energetische Betrachtungsweise unter Beiseitelassung vitaler Kräfte, wirft im Gegensatz dazu Green's Anschauung das ganze Problem zurück in den Bannkreis der „Lebenskraft“.[4]) Diese scheinbar einheitliche Auffassung führt uns nicht weiter, macht keine Begriffsbestimmung des „Fermentes“ möglich, da sie eben die Fermentwirkungen untertauchen lässt in die räthselvollen Tiefen des Lebensprocesses. Mit dem „Leben“ hängen diese Enzyme nur dadurch zusammen, dass sie Producte lebender Zellen sind, und dass sie eine grosse biologische Bedeutung für das Leben besitzen.

Allerdings spricht sich auch Green später in seinem Buche vor[illegible] aus. Obwohl er auch hier die Fermente wieder nur nach

[1]) [illegible]hter, Wirkg. d. Blausäure. Diss. Basel 1875.
[2]) [illegible] Bary, Vorlesg. üb. Bacterien. Leipzig 1885. S. 65.
[3]) [illegible]. Annals of botany VII. Ferner „Die Enzyme“, übersetzt v. [illegible] 1901.
[4]) [illegible] hier unter Lebenskraft nicht jene vielbefehdete speci[illegible] entwachsene Energie der Lebensvorgänge, sondern [illegible]risch: als Summe der Energien, die das „Leben“ [illegible] Zusammenspiel bisher nicht erklärt ist, wenn es auch [illegible] erklärt werden kann. Zur Frage nach der [illegible] nehme ich hier keine Stellung.

ihrer biologischen Bedeutung würdigt, sie als Werkzeuge der lebenden Zelle hinstellt, giebt er doch ausdrücklich zu, dass die „Gährungen" (also natürlich noch mehr die Enzymwirkungen) „neben dem eigentlichen biologischen Process herlaufen" (p. 10).

Damit giebt aber Green selbst die rein biologische Betrachtungsweise der Fermente preis, die uns bei einer consequenten Durchführung zu einer Identificirung des Fermentbegriffes mit dem des Stoffwechsels führen würde, und dann hätten wir einem uralten Räthsel einen neuen Namen gegeben.

Ich möchte schon an dieser Stelle darauf hinweisen, dass die Frage, inwieweit die Fermente wichtige Werkzeuge des Lebensprocesses sind, eine ganz andere ist. An dieser Stelle handelt es sich nur um die theoretische Begriffsbestimmung der Fermente selbst. Dass die Zelle zahlreiche Fermente bildet, um sie als Mittel zu ihrer Function zu verwenden, hat mit der Begriffsbestimmung der Fermente an sich nichts zu thun, denn diese Fermente sind nach ihrer Bildung eigene Agentien mit eigener Wirkung. Wenn man also auch mit Hofmeister[1]) daran festhalten darf, dass den intracellulären Fermentprocessen im Stoffwechsel ein dominirender Einfluss zuzuschreiben ist, so nimmt er selbst doch an, dass dabei eben fertige Fermente innerhalb der Zelle selbständig wirksam sind.

Verwandt damit ist die Ansicht von Stohmann[2]), der annimmt, dass die Nährstoffe zuerst an das lebende Protoplasma gebunden werden und dann aus diesem „katalytisch" als Eiweiss, Fett etc. abgespalten werden. Damit würden also auch Fermentwirkungen im weitesten Sinne im Stoffwechsel der Zelle selbst anzunehmen sein. Dieser Gesichtspunkt ist in sehr geistvoller Weise von Max Kassowitz[3]) zu einem umfassenden Lehrgebäude ausgebeutet worden. Für die Betrachtung der Fermentprocesse an sich lässt sich dieser Gedanke indess nicht verwerthen, da die obwaltenden Vorgänge im Protoplasma sich kritischer Beurtheilung entziehen.

Auch Hofmeister's geistvolle Idee, dass in der colloidalen Protoplasmamasse selbständige Fermentprocesse nebeneinander hergehen könnten, ist nur eine Hypothese, die uns ein sehr elegant entworfenes Bild von dem Energiewechsel der Zelle giebt, die Fermentprocesse selbst aber nicht erklären will.

Die ganze biologische Auffassung der Fermentprocesse führt uns also in eine Sackgasse.

Dieser Einwand wendet sich nicht nur speciell gegen Green's

1) Hofmeister, Chem. Organisation der Zelle. Braunschweig 1902.
2) Stohmann, Z. f. Biol. 31. 385.
3) Kassowitz, Allgemeine Biologie I. (Wien 1899).

Ansicht, sondern überhaupt gegen die Auffassung von dem Wirken der geformten Fermente, wie sie von Pasteur ausging, als Stoffwechsel der niederen Organismen. Nichts berechtigt uns, hier willkürlich eine Grenze zu ziehen zwischen den niederen Pilzen, deren Stoffwechsel aus Fermentwirkungen bestehen soll, und den anderen Lebewesen, den höheren Pilzen, den Chlorophyllpflanzen und den Thieren. Dies hat übrigens einer der eifrigsten Verfechter des biologischen Standpunkts, Schützenberger[1]), implicite zugegeben, indem er die Absonderung der Gährungserscheinungen für eine Folge der bis dahin mangelhaften Kenntnisse erklärt.

Die biologische Betrachtungsweise erweist sich also für eine einheitliche Auffassung des Fermentbegriffes als unfruchtbar, und wenn es nicht gelingt, eine energetische Grundanschauung zu finden, die die Kluft zwischen den Enzymen und den geformten Fermenten überspannt, so müssen wir Hansen ganz Recht geben: Wir müssen unterscheiden zwischen den leblosen Enzymen und den Lebenserscheinungen als solchen; und dann ist es auch berechtigt, in diesem Rahmen die Lebenserscheinungen der niederen Pilze von denen der übrigen Organismen gesondert zu betrachten. Das sind dann rein biologische Fragen, die die Lehre von den Fermenten nicht mehr berühren. Aber diese Nothwendigkeit liegt nicht vor. Haben schon die oben erwähnten Thatsachen die Grenzlinie zwischen ungeformten und geformten Fermenten zu einer schwankenden gemacht, so ist durch die epochemachenden Versuche von E. Buchner die Unterscheidung in ihrer theoretischen Bedeutung hinfällig geworden. Dadurch, dass es Buchner gelang, einige bisher absolut untrennbar mit dem Lebensprocess verknüpfte Fermente, so das den Traubenzucker vergährende Ferment der Hefezellen sowie die Enzyme der Milchsäure- und Essiggährung, als Enzyme, als Zymasen vom Lebensprocess zu [illegible], ist die Aussicht eröffnet, dass überhaupt der Unterschied zwi[illegible] Enzymen und geformten Fermenten aus der theoretischen [illegible]weise verschwinden wird.

[illegible] wird die unerlässliche Vorbedingung geschaffen für eine [illegible] Auffassung des Fermentbegriffes und diese kann nur [illegible] Natur sein.

[illegible] uns fragen: Welcher Art müssen die Um[illegible], die wir als Fermentwirkungen bezeichnen; [illegible] Grenze zu ziehen zwischen ihnen und anderen [illegible]

[1]) [illegible] Die Gährungserscheinungen. Internat. wiss. Bibl.

Es fragt sich ferner, welcher Art müssen die chemischen Processe sein, die durch Fermente ausgelöst werden können.

Diese Frage ist in den letzten Jahren durch die Arbeiten von Ostwald und seinen Schülern, insbesondere Georg Bredig's ihrer Lösung beträchtlich näher gerückt worden.

Ostwald hat gezeigt, dass die fermentativen Processe im grossen und ganzen den Gesetzen folgen, die auch für die Katalyse gelten. Katalytisch zu beschleunigende Vorgänge sind nach Ostwald's Definition solche, die ohne Einmischung eines fremden Stoffes zwar spontan eintreten, aber ausserordentlich langsam verlaufen können. Der Katalysator hat nun die Wirkung, diesen langsam verlaufenden Process derart zu beschleunigen, dass er in relativ kurzer Zeit sichtbar in die Erscheinung tritt und bis zu einem Gleichgewichtszustand zu Ende geführt wird. Es handelt sich also bei katalytisch zu beschleunigenden Processen nur um solche, die spontan verlaufen können; nur solche chemischen Vorgänge treten aber von selbst ein und können deshalb katalytisch beschleunigt werden, bei denen Arbeit geleistet wird (van t'Hoff). Im Allgemeinen werden derartige Vorgänge, bei denen Arbeit geleistet wird, auch exothermisch sein, d. h. unter Abgabe von Wärme verlaufen; doch giebt es auch Processe, die zwar unter Leistung von Arbeit, aber ohne Freiwerden von Wärme verlaufen, oder sogar Wärme binden, endothermisch sind.

Ein solcher Vorgang, bei dem zwar Wärme absorbirt, aber Arbeit geleistet wird, ist z. B. der Zerfall von Phosphoniumchlorid in Phosphorwasserstoff und Chlorwasserstoff

$$PH_4Cl = PH_3 + HCl.$$

Dieser Process verbraucht Wärme, erzeugt aber einen Druck von einigen 20 Atmosphären, leistet also Arbeit. Infolge dessen vollzieht er sich spontan bei gewöhnlicher Temperatur.[1])

Berthelot hatte angenommen, dass die Wärmeentwicklung das nothwendige Kriterium eines chemischen Vorganges sei; nach den heutigen Vorstellungen sind es indessen die Arbeitsleistungen, die gemessen werden und entscheiden, ob ein Vorgang eintreten kann. In sehr vielen Fällen ist beides identisch, die geleistete Arbeit erscheint dann als Wärme. Dies rührt nach van t'Hoff daher, dass bei Processen, die bei der Temperatur des absoluten Nullpunktes vor sich gehen, die geleistete Arbeit ausschliesslich als Wärme auftritt; und weil unsere gewöhnlichen Reactionen, und jedenfalls alle Fermentprocesse bei relativ niederer Temperatur vor sich gehen, deswegen

1) Cit. nach van t'Hoff, 8 Vorträge üb. Physikal. Chemie. Braunschweig 1902. S. 21.

stimmt Berthelot's Satz so oft. Bei hohen Temperaturen dagegen, bei ca. 1000° verläuft alles anders, meist nicht nach dem Berthelot'schen Princip[1]). Z. B. tritt bei ca. 1000° ein spontaner Zerfall des Wassers in H und O ein, also ein durchaus endothermer Vorgang.

Im Allgemeinen wird also höhere Temperatur ein Spontaneintreten endothermer Reactionen mehr begünstigen, Erniedrigung der Temperatur exotherme Reactionen.

Allgemein drückt dies die Regel des „beweglichen Gleichgewichtes" aus (van t'Hoff[2])).

Wenn ein System B sich aus System A bildet, und ein Gleichgewichtszustand nach dem Massenwirkungsgesetz von Guldberg und Waage eingetreten ist, so wird Erhöhung der Temperatur folgendermassen wirken:

Ist der Uebergang von B nach A mit Wärmeentwicklung verbunden, so tritt bei Erhöhung der Temperatur eine Gleichgewichtsstörung in dem Sinne ein, dass B auf Kosten von A zunimmt, und umgekehrt A auf Kosten von B, wenn die Reaction endotherm ist.

Erhöhung der Temperatur begünstigt also stets endothermische Processe.

Noch allgemeiner ist die Regel von Le Chatelier, dass jede Aenderung der Bedingungen in einem System eine Aenderung des Systems selbst hervorruft, die diese Aenderung auszugleichen bestrebt ist: bei Wärmezufuhr also tritt eine Begünstigung des wärmebindenden Vorganges ein.

So wird denn bei Temperaturen, die nicht sehr weit vom absoluten Nullpunkt entfernt sind, und wie sie bei vitalen Vorgängen allein in Frage kommen, die Tendenz zum exothermischen Verlauf in der grossen Mehrzahl der Fälle vorherrschen.

Damit zusammenhängend ist die Einstellung des Gleichgewichtszustandes.

Eine Reihe von Vorgängen verläuft ohne Wärmeänderungen: [illegible] Einstellung des Endzustandes ist ausschliesslich von der relativen [illegible]ration der Componenten abhängig und ergiebt sich aus dem [illegible]-Waage'schen Gesetz.

[illegible] Processen ist dann auch die Temperatur ohne Be[illegible] den Endzustand, sie verändert nur die Geschwindig[illegible] er sich einstellt, die Reactionsgeschwindigkeit.

[illegible] aber ist die Temperatur auch auf den Endzustand [illegible], so bei allen Processen, wo Wärmeumsetzungen [illegible]

[illegible] von exothermischen Processen, die bei gewöhn-

[1]) [illegible] Frage und über die physikalische Chemie der Fer- [illegible] Physikal. Chemie der Zelle und Gewebe. Leipzig [illegible] Theoret. Chemie. III. Aufl. Stuttgart 1900.

[2]) [illegible] Theoret. Chemie. Leipzig 1902. S. 185.

lichen Temperaturen scheinbar restlos verlaufen, keinen Gleichgewichtszustand herbeiführen, kann man bei hoher Temperatur die entgegengesetzte endothermische Reaction doch eintreten sehen (s. o. Zerfall von H_2O); so dass auch hier echte Gleichgewichtszustände auftreten, die nur bei niederer Temperatur praktisch nicht vorhanden sind, da die entgegengesetzte Reaction zu gering ist.

Katalytisch beschleunigt werden können also sowohl die schon bei niederen Temperaturen, und eventuell unabhängig von der Temperatur, zu Gleichgewichtszuständen führenden reversiblen chemischen Processe, z. B. die Esterspaltung durch Säuren, als auch die scheinbar restlos verlaufenden, wie die Verbindung von Wasserstoff mit Sauerstoff etc. Diese Beschleunigung kann bewirken, dass sie unter Umständen praktisch dadurch überhaupt erst in Erscheinung treten, wie die Knallgaskatalyse, die bei Zimmertemperatur praktisch unendlich langsam verläuft.

So sind also theoretisch alle Processe reversibel; es fragt sich nur von Fall zu Fall, ob man die Rückbildung unter den bei der Reaction möglichen Bedingungen beobachten kann; oder ob nicht der rückbildende Process sich in praktisch unmessbarem Umfange vollzieht.

Bei den einfachen Beispielen reversibler Processe, wie der Esterspaltung, liegen die Verhältnisse sehr klar. Die Esterificirung und entsprechende Esterspaltung ist so gut wie unabhängig von der Temperatur, abhängig nur von der relativen Concentration der Einzelbestandtheile. Hier stellt sich also bei jeder Temperatur der gleiche Endzustand ein, mag man von dem Ester + Wasser oder dem Alkohol + Säure ausgehen. Und die Herbeiführung dieses Endzustandes lässt sich von beiden Enden her katalytisch beschleunigen. Der Katalysator beschleunigt ebensowohl die Esterbildung wie die Esterspaltung.

Schwerer zu entscheiden ist die Frage, ob auch die von der Temperatur abhängigen Gleichgewichtszustände durch Katalyse in rückläufiger Reaction beschleunigt werden, zumal in den Fällen von exothermischen Processen, wo der endothermische Gegenvorgang bei niederen Temperaturen ausserordentlich geringfügig ist. Hier muss von Fall zu Fall untersucht werden. Jedenfalls können hier bei niederer Temperatur Katalysatoren die Bildung der rückläufig entstehenden Producte nicht merklich beschleunigen, sondern ein solches Sichtbarwerden kann nur durch Katalyse bei hoher Temperatur eintreten.

Wenn wir also die Fermente als Katalysatoren a müssen
wir den Umstand im Auge behalten, dass die r bei
niederer Temperatur, nicht über 80⁰ wirken könne ssen

niemals jene endothermischen Reactionen beschleunigen können, die erst bei höherer Temperatur in die Erscheinung treten.

Gäbe es z. B. ein Knallgas katalysirendes Ferment, so wäre dessen Wirkung absolut irreversibel, da eine rückläufige Beschleunigung des H_2O-Zerfalls erst bei sehr hoher Temperatur möglich wäre.

Wenn also die Spaltungen, die durch Fermente bewirkt werden, solche praktisch rein exothermischen sind, so können sie von ihnen nur in diesem Sinne beschleunigt werden. Diese Processe verlaufen also nur in einer Richtung.

Dazu gehören wahrscheinlich der Abbau der Eiweissstoffe und der Stärke zu einfacheren Spaltproducten etc., sowie die bisher darauf untersuchten tiefer gehenden Glucosidspaltungen. Diese Fermentprocesse würden also einsinnig in der Richtung der Aufspaltung complexer Stoffe, in exothermischer Reaction verlaufen.

Wo es sich aber um Herstellung einfacher Gleichgewichte handelt, wo die spaltende und aufbauende Reaction eventuell ohne jede Wärmetönung deutlich nebeneinander eintreten, können die Fermente ebensowohl den rückläufig synthetischen, wie den ihnen früher allein zugeschriebenen hydrolytisch spaltenden Vorgang beschleunigen, also bei allen reversiblen Processen im praktischen Sinne.

So können also auch Fermentprocesse in umkehrbarer Richtung verlaufen, es können auf diese Weise Synthesen eingeleitet werden. Dann richtet sich das schliesslich sich ausbildende Gleichgewicht nach der Concentration, der eventuellen Schädigung des Katalysators durch entstehende Producte der Reaction, der Temperatur etc.

Solche reversiblen Processe können experimentell nachgewiesen werden, wie es Hill für die Maltase, Kastle und Loevenhart für die Lipase gezeigt haben (s. dort) etc. Sie sind auch in viel weiterem Umfange nicht auszuschliessen, da man vorher nicht bestimmen kann, ob ein Vorgang reversibel ist. So sind auch z. B. Eiweisssynthesen auf diesem Wege denkbar (s. b. Plasteïnen). Für die Existenz eines Glycogen synthetisch aufbauenden Fermentes sprechen Versuche von Cremer[1]), dass aus einfachen Zuckern durch Buchner's Zymase Glycogen entstehe.

Dagegen ist es nicht angängig, nunmehr alle synthetischen Vorgänge in lebenden Zellen auf katalytische, auf Fermentwirkungen zurückzuführen. Wo es sich um Veränderung ruhender Systeme, um Aufhebung von Gleichgewichten handelt, muss eine Zufuhr äusserer Energie einsetzen; solche Processe treten unter keiner uns bekannten

1) Cremer, Chem. Ber. 32. 2062 (1899).

Bedingung spontan ein, können also auch nicht katalytisch beschleunigt werden. Solche Processe sind es, in denen die Zelle mit Hilfe äusserer, besonders der Energie der Sonne, aus einfachen Gleichgewichtssystemen, wie Kohlensäure und Wasser, hochcomplexe Substanzen aufbaut, in denen Energie aufgespeichert ist.

Diese Processe sind innerhalb der äusseren Bedingungen, unter denen sich die Lebensvorgänge abspielen, also vor Allem bei nicht mehr als 100^0, nur von der lebenden Zelle durchführbar.

Dazu gehört sicherlich ein grosser Theil der complicirten Synthesen der lebenden Substanz, vielleicht auch die der complexen paraplasmatischen Bildungen, wie Alkaloide, Stützgewebe etc. Freilich können diese letzteren auch aus noch höheren Protoplasmacomplexen abgespalten sein, eventuell katalytisch entstehen, doch müssen dann eben erst die höheren Complexe synthetisch gebildet sein. Jedenfalls hat man volle Berechtigung anzunehmen, dass diese Lebensäusserungen nicht auf die Wirkung von Fermenten zurückzuführen sind, und wieder finden wir die Berechtigung, die fermentativen Vorgänge theoretisch völlig von den Lebenserscheinungen als solchen zu trennen.

Die Fermentprocesse folgen also in ihrer Wirksamkeitsumgrenzung den Gesetzen der Katalyse. Auch ihr Verlauf deckt sich im Allgemeinen mit den anderen Katalysen; auf gewisse Unterschiede werden wir noch zurückkommen.

Nur in einem sehr wesentlichen Punkte unterscheiden sie sich von den einfachen Katalysen. Die Fermente wirken streng specifisch; sie greifen stets nur eine ganz eng umschriebene Gruppe von Substraten an. Daraus folgt, dass die Fermente nur dann wirken können, wenn ihnen ein Angriffspunkt gegeben ist; dass also der zweiten Phase, dem Eintreten der katalytischen Wirkung, noch eine primäre Phase: ein Anheften des Ferments ausschliesslich an ein passendes Substrat vorhergehen muss. Die Fermente sind also zwar Katalysatoren, aber ganz eigenartige, streng specifische, von den einfachen, nicht specifischen also zu unterscheiden. Diese Unterscheidung wird auch dadurch nicht hinfällig, dass auch anorganische Katalysatoren existiren, die specifisch wirken (Bredig). Wenn Bredig auch für diese eine präliminare Bindung an das Substrat annimmt, so ist diese Uebereinstimmung um so werthvoller für unsere Annahme, dass der katalytische Zerfall erst die zweite Phase des Processes ist. Auf die Art der Bindung werde ich unten ausführlich zurückkommen.

Zweites Capitel.

Feststellung des Begriffes „Ferment“.

Wir gelangen aus diesen Erwägungen zu folgender Definition des Begriffes „Ferment“:

Ein Ferment ist eine katalytisch wirkende Substanz, die von lebenden Zellen erzeugt wird und mehr oder minder fest an ihnen haftet, ohne dass ihre Wirkung an den Lebensprocess als solchen gebunden ist; die Fermente sind im Stande chemische Processe auszulösen, die auch von selbst, wenn auch in langsamerem Verlaufe, einzutreten bestrebt sind. Das Ferment selbst bleibt bei diesem Process unverändert. Es wirkt specifisch, d. h. jedes Ferment richtet seine Thätigkeit nur auf Stoffe von ganz bestimmter structureller und stereochemischer Anordnung. Ich will nunmehr versuchen, die einzelnen Sätze dieser Definition ausführlicher zu beleuchten.

Ich habe die Fermente als „Substanzen“ bezeichnet, obwohl wir über die chemische Natur der Fermente noch absolut im Unklaren sind. Während man einerseits geneigt ist, die Fermente als zwar noch nicht in reinem Zustande bekannte, aber nur in Folge des mangelhaften Zustandes unserer Kenntnisse noch nicht wohlcharakterisirbare chemische Verbindungen von bestimmter Constitution aufzufassen, halten andere sie für völlig immaterielle, an wechselnde chemische Körper sich gleichsam [illegible] Energiemengen, wie die Elektricität in einem Conductor [illegible]. Indessen ist es doch wohl ziemlich sicher, dass es wirkliche Substanzen sind.

Früher hielt man die Fermente einfach für Eiweisskörper, oder man [illegible] umgekehrt den Eiweisskörpern fermentative Wirksamkeit [illegible] von den diastatischen Fermenten (s. d.) be[illegible]. Neuere Arbeiten schreiben sogar einigen Fermenten [illegible] Natur zu, sie sollen aus Riesenmolecülen

[illegible] Paris 1896 (Thèse).

bestehen, die auch einen Eiweisskern enthalten. Andererseits hat man besonders vom Pepsin und der Invertase (s. d.) feste, sehr wirksame Präparate gewonnen, die keine Eiweissreactionen mehr geben und so dem Gedanken Raum lassen, dass man es hier wirklich mit chemischen Individuen zu thun haben könnte. Indessen ist bis jetzt kein Ferment trotz vieler Untersuchungen auch nur mit hinreichender Wahrscheinlichkeit als einheitlich festgestellt und noch weniger in seiner Constitution aufgekärt worden. Man muss sich also über diesen Punkt mit aller Reserve ausdrücken. Wir werden diese Frage späterhin ausführlich behandeln.

Das Ferment habe ich ferner als „katalytisch wirkende“ Substanz im Sinne der Ostwald'schen Schule bezeichnet, obwohl nicht verhehlt werden darf, dass sich im Verlaufe der Fermentprocesse doch eine Reihe kleiner Abweichungen von dem der einfachen Katalysen nachweisen lassen, auf die wir noch genauer eingehen werden. Andererseits ist aber die Uebereinstimmung in den grossen Zügen so vollkommen, dass man wohl trotz dieser kleinen Differenzen berechtigt ist, die Fermentprocesse den katalytischen zuzurechnen. Besonders die ausgezeichneten Arbeiten von Bredig[1]) haben so grundlegende Aehnlichkeiten zwischen dem Verlauf, der Förderung und Hemmung der z. B. durch Platinsol (colloidales Metall) bedingten Katalyse einerseits und der Fermentwirkung andererseits nachgewiesen, dass man wohl berechtigt ist, beide Arten von Processen unter den höherstehenden Begriff der „Katalyse“ zu subordiniren. Daneben aber behalten andererseits die Fermentprocesse in ihrer Specificität noch so viel Eigenes, dass man sie mit den unspecifischen Katalysatoren coordiniren muss. Ich halte es deshalb für irreführend, wenn Bredig seine Metallsole als „anorganische Fermente“ bezeichnet, und habe mich mit ihm deshalb schon an anderer Stelle[2]) auseinandergesetzt. Ausser ihrer Specificität tragen die Fermente noch absolut unauslöschlich den Charakter des „Organischen“ an sich, dass sie nämlich von lebenden Zellen erzeugt sind.

Der Begriff „Katalysator“ muss der höhergestellte, weil allgemeinere bleiben, nicht der historisch beengte des „Fermentes“.

Nicht hiesse es, wie Bredig mir vorwirft, das Herz nicht als Pumpwerk anerkennen, weil es organisch ist, wenn man das Wort „anorganisches Ferment“ beanstandet; im Gegentheil hiesse es eine Ventilpumpe als „anorganisches Herz“ bezeichnen, wenn man das Wort benutzt.

Denn in ihm steckt die willkürliche Erweiterung eines Speciellen zum Allgemeinen unter Unterdrückung wichtiger, im Wort liegender Beziehungen. A potiori fiat denominatio!

---

1) Bredig, Anorganische Fermente. Habilit.-Schrift. Leipzig 1901.

2) Oppenheimer, Münch. med. Woch. 1901. Nr. 16.

Wie jene Substanzen und auch die Fermente reactionsbeschleunigend wirken, können wir nicht mit Sicherheit klarstellen.

Eine Anschauungsweise, die uns nicht mehr gewährt, als ein Bild, ist die, dass man die Wirksamkeit der Fermente so aufzufassen hätte, dass sie selbst nicht unverändert bleiben, aber sich stets regeneriren. So soll bei der Hydrolyse das Ferment selbst zunächst Wasser aufnehmen und dann an das zu hydrolysirende Substrat weitergeben, indem es sich selbst ad integrum restituirt, um diesen Process zu wiederholen.[1]) Abgesehen davon, dass es sehr schwierig vorzustellen ist, wie das Ferment in wässriger Lösung im Stande sein soll, sein Wasser wieder abzugeben, noch dazu an Stoffe, die sonst unter diesen physikalischen Bedingungen gegen Wasser keine Affinität zeigen (z. B. Eiweisskörper), so ist damit immer noch nichts erklärt, denn die Frage steht auf demselben Fleck: Warum giebt das Fermenthydrat, wenn ich mich so ausdrücken darf, sein Wasser an das Substrat weiter ab? Dasselbe, wie für die hydrolytische, wurde auch für die oxydative Spaltung versucht; das Ferment sollte sich selbst abwechselnd oxydiren, dabei also Sauerstoff aufnehmen und unter Abgabe an das Medium wieder reduciren; dafür gilt ebenfalls das oben Gesagte. Man hat dabei namentlich an eine wichtige Rolle des organisch gebundenen Eisens gedacht.[2])

Werthvoller erscheint mir eine andere Ansicht, die in ihren Grundzügen von Bunsen und Hüfner aufgestellt, besonders von Wurtz bei seinen Arbeiten über das Papaïn vertreten wurde. Danach dürfte man annehmen, dass das Ferment sich zunächst mit dem zu fermentirenden Substrat zu einer lockeren, schnell wieder zerfallenden Verbindung zusammenschliesst und dass beim Zerfall dieser Verbindung ein Zerfall auch des Substrates eintritt. Gestützt wird diese Ansicht besonders durch die Thatsachen, dass die Fermente, besonders Pepsin und Papaïn mit Fibrin thatsächlich eine so feste Verbindung eingehen, dass sie durch einfaches Waschen nicht von einander getrennt werden können. Auch für anorganische Katalysatoren werden solche präliminaren Bindungen angenommen (s. b. Bredig, Kinetik etc. l. c.). Wir werden die Consequenzen aus diesen Thatsachen erst später ziehen können, müssen aber gleich vorausschicken, dass eine Ansicht, welche eine präliminare Vereinigung von Ferment und Substrat annimmt, zwar eine plastischere Vorstellung von den Bedingungen des Eintritts

1) Ein Versuch, die Wasseraufnahme, die ein Ferment bei der Zerstörung erleiden sollte, experimentell durch Gewichtszunahme zu constatiren, ist fehlgeschlagen (A. Mayer, Enzymologie. Heidelb. 1882. S. 107).

2) Spitzer, Pflüg. A. 67. Sacharoff, Das Eisen als das thätige Princip der Enzyme. Jena 1902.

einer Fermentwirkung gestattet, aber auch nicht geeignet ist, zu einer vollen Theorie der Fermentwirkungen ausgebildet zu werden.

Wenn wir diese Betrachtungsweise auf specielle chemische Vorgänge übertragen, so sehen wir, dass unter den Beschränkungen, die für fermentative Processe gelten, wo ja der einfache Austausch von Atomgruppen verschiedener Natur (Substitution) nicht wie bei vielen rein chemischen Processen vorkommt, im Allgemeinen nur zwei chemische Vorgänge auf fermentative Wirkungen zurückgeführt werden können, nämlich vor Allem die Spaltung unter Aufnahme der Elemente des Wassers, die hydrolytische Spaltung analog der durch Säuren oder Alkalien ausgeübten; und ferner die Oxydation, meist in Verbindung mit Trennung der Molecüle, also die oxydative Spaltung, mag sie nun mit Verbrauch atmosphärischen Sauerstoffs einhergehen, oder ohne dessen Zuthun als „innere Oxydation" verlaufen (s. u.). Synthetische und reductive Vorgänge können nur innerhalb der oben gezogenen Grenzen eintreten, wenn es sich nämlich um spontan verlaufende, katalytisch zu beschleunigende Processe handelt.

Man muss unterscheiden lernen zwischen den Fermenten der lebenden Zellen, deren Thätigkeit man sich auch getrennt von diesen vorstellen kann, und die ja auch de facto in vielen Fällen wirklich von der Zelle losgelöst werden können, und den Lebensvorgängen der Zelle als solchen, die auch unter Verbrauch äusserer Energie ruhende Gleichgewichte ändern, complexe Verbindungen synthetisch erzeugen kann, wobei allerdings nicht auszuschliessen ist, dass der eine oder der andere dieser Processe bei weiterem Studium sich als ein katalytisch zu beschleunigender herausstellen möge.

Man darf nicht mehr die Fermentwirkungen, oder wenigstens einen wichtigen Theil derselben, mit dem Stoffwechsel gewisser niederer Organismen identificiren; die „Gährungs"erscheinungen sind, wie wir später sehen werden, gemischt aus Vorgängen, die entweder sicher fermentative sind oder zum mindesten ohne Zwang als solche aufgefasst werden können, und anderen, bei denen Processe mitspielen, die vorläufig nicht zu entwirren sind. Man thut deshalb vielleicht am besten, für diese Betrachtungen[1]) den Begriff der „Gährung", wie er sich historisch entwickelt hat, ganz über Bord zu werfen und zu unterscheiden zwischen Enzymwirkungen der niederen Lebewesen, die völlig in Analogie zu setzen sind mit denen höherer Thiere und Pflanzen, und der Biochemie der Mikroorganismen im engeren Sinne,

1) Natürlich nur für diese theoretische Betrachtung. Für die Praxis ist uns vorläufig wenigstens der Terminus „Gährung" zu werthvoll, um ihn verschwinden zu lassen.

die in unmerklichen, nirgends scharf abgrenzbaren Uebergängen sich derjenigen der höheren Lebewesen nähert.

Wir ziehen also die trennende Grenzlinie nicht mehr zwischen organisirten und ungeformten Fermenten, sondern zwischen Fermenten überhaupt im angegebenen Sinne und dem Lebensprocess als solchem. Jeder Vorgang, der als ein fermentativer nachgewiesen werden kann, verlangt eine gesonderte Betrachtung, unbekümmert um seine biologische Bedeutung. Der grosse Rest von noch unaufgeklärten Processen, unter denen sich sicherlich auch echte Fermentvorgänge noch unbekannter Natur auffinden lassen werden, muss aus praktischen Gründen der Biochemie des lebenden Protoplasma überlassen bleiben.

Allen Fermenten ist es gemeinsam, dass sie von lebenden Zellen erzeugt werden, wesentlich verschieden ist aber das Verhältniss, in dem sie nach ihrer Bildung zur Mutterzelle stehen. Wir sahen, dass der Grad dieses Zusammenhangs wechselt von den einfach secernirten Fermenten bis zu solchen, die bisher absolut nicht von den lebenden Zellen getrennt werden können. Aber es ist für unsere Betrachtungsweise nicht von entscheidender Wichtigkeit, ob die Thätigkeit eines Fermentes wirklich von der Lebensthätigkeit der es erzeugenden Zelle getrennt beobachtet werden kann; es ist genügend, wenn seine Wirkung unter diesen Bedingungen vorgestellt werden kann. Zu dieser Vorstellbarkeit gehört eben die Bedingung, dass die Thätigkeit von der aufbauenden Function der lebenden Zelle unabhängig sein kann. Und das ist wieder erfüllt, wenn der zu untersuchende chemische Process ein spontan eintretender, durch Katalyse zu beschleunigender ist.

Wir werden uns also von dem Unterschiede zwischen geformten Fermenten und Enzymen, wenigstens theoretisch, emancipiren und alle diejenigen Processe als fermentative bezeichnen, bei denen durch lebende Zellen oder ihre Producte derartige katalytische Wirkungen ausgelöst werden. Wir werden andererseits alle die Processe von den Fermentwirkungen sondern, bei denen die lebende Zelle kraft der ihr von aussen zugeführten Energie complicirte Stoffe aufbaut, Umkehrungen irreversibler Processe vornimmt, weil unseres Erachtens derartige Vorgänge als ausschliesslich dem Lebensprocess als solchem angehörige einem ganz anderen Wissensgebiet, nämlich der Biochemie des Protoplasmas im engeren Sinne zugeordnet werden müssen. Diese Lehre umfasst die Biochemie der höheren Lebewesen genau so wie die der niederen; die Synthese von Kohlehydraten und Eiweissstoffen, von Alkaloiden, Farb- und Bitterstoffen der höheren Pflanzen ebensowohl wie die des Glycogens, der Harnsäure etc. der höheren Thiere, wobei wir ohne Weiteres zugeben wollen, dass sich vielleicht einer

oder der andere dieser Einzelprocesse späterhin als ein katalytischer, als ein Fermentprocess herausstellen wird. An der principiellen Stellungnahme ändert dies nichts, da immer noch complicirte Vorgänge zurückbleiben werden, deren Behandlung als Fermentprocesse nicht gelingen wird.

So einfach indessen diese Auffassung des Fermentbegriffes theoretisch ist, so ergeben sich doch einige Schwierigkeiten, wenn man daran geht, nunmehr auf Grund dieser Begriffsbestimmung die positive Umgrenzung des zu behandelnden Materials zu formuliren.

Es wird in vielen Fällen kaum möglich sein, die ungeheuer complicirten Vorgänge in lebenden Zellen zu entwirren, und auf etwa vorhandene echte Fermentwirkungen hin einzureihen.

Dies gilt namentlich von den unübersehbar mannigfachen Umsetzungen, welche durch Mikroorganismen ausgelöst werden. Manche von diesen sind reine Fermentprocesse, wie z. B. die Spaltung des Traubenzuckers in Milchsäure, die ja auch durch glatte chemische Spaltung aus ihm entsteht; desgleichen die Lösung von Eiweissstoffen, wie der Gelatine, durch Fermente der Bacterien, die man zum Theil sogar isoliren kann.

Complicirter und schwieriger zu entscheiden sind zahlreiche andere Fälle; doch liegt hier die Sache so, dass man meist mit grosser Bestimmtheit die Vorgänge dem Stoffwechsel zuschreiben darf, da man anderenfalls in demselben Organismus zahlreiche, sonst unbekannte Enzyme annehmen müsste. Ein Beispiel für viele mag darthun, ob ich berechtigt gewesen bin, alle diese eigenartigen Umsetzungen der Bacterien fortzulassen, obgleich vielleicht ein Theil der Processe wirklich fermentativ ist.

Der Pneumobacillus Friedländer erzeugt nach Grimbert[1]) aus Mannit viel Milchsäure, gleich viel an Essigsäure und Alkohol; aus Dulcit viel Bernsteinsäure, keine Milchsäure, wenig Essigsäure, viel Alkohol; aus Arabinose viel Milchsäure, keine Bernsteinsäure, viel Essigsäure, keinen Alkohol; Xylose verhält sich wieder anders.

Aehnlich wirken andere Mikroben. Wenn ich also auch, wie gesagt, gern zugeben will, dass hier auch wirkliche fermentative Processe mitspielen, so erscheint es doch aus praktischen Gründen unthunlich, alle diese Vorgänge in einer Abhandlung über Fermente zu besprechen. Sie gehören praktisch der Biochemie der Mikroorganismen an.

Aus ähnlichen Gründen habe ich mich entschlossen, die Fäul-

1) Grimbert, C. R. soc. biolog. 48. 191 (1896).

nissvorgänge im engeren Sinne hier fortzulassen. Wenn auch bei diesen Umsetzungen, z. B. der Cellulose, des Glycerins, der Eiweissstoffe u. s. w., wie sie die Mikroben der Fäulniss hervorrufen, sicher auch echte Fermentwirkungen mitspielen, so sind sie doch derartig verflochten mit anderen Processen zweifellos rein biochemischen Charakters, dass es unmöglich ist, sie daraus zu isoliren und unter die Fermentwirkungen einzureihen. Wenn auch aus den Proteiden bei der Fäulniss durch echte Fermentation typische hydrolytische Spaltproducte entstehen, so werden sie doch zum grossen Theil später durch rein biochemische Vorgänge, durch Reduction und Synthese weiter verändert.

Auf jeden Fall ist es unmöglich, sich bei diesen ausserordentlich complicirten Combinationen der verschiedensten chemischen Reactionen die Vorstellung eines wirklichen Fermentprocesses zu machen, der unabhängig vom Lebensprocess gedacht werden kann, und keinem Buchner wird es gelingen, ein Fäulnissenzym mit seinen typischen Wirkungen aus den Bacterien darzustellen.

Aehnlich scheint es sich mit der sog. Buttersäuregährung zu verhalten. Wahrscheinlich spielen auch hier wirkliche Fermentprocesse mit. Sie ist aber ein so wenig einheitlicher Vorgang, bei dem jede Mikrobenart und jedes Material zu anderen Producten führt, dass es unmöglich erscheint, hier einen echten fermentativen Process aus dem Knäuel biologischer Umsetzungen heraus zu suchen. Ich verzichte deshalb auf ihre Erörterung ebenso wie auf die der „Schleimgährung" und anderer Umsetzungen der Kohlehydrate, die durch Mikroorganismen bedingt werden [1]).

Ich möchte aber nochmals betonen, dass es vorwiegend rein praktische Gründe sind, die mich zu dieser Ausschliessung veranlassen. Es ist eben nicht möglich, diese complicirten Vorgänge zu entwirren und als Fermentprocesse zu beschreiben [2]).

1) Diese Gährungen sind ausführlich geschildert bei Emmerling, Zersetzung stickstofffreier Substanzen durch Bacterien. Braunschweig 1902.

2) Da bis hierher der Satz bereits fertig stand, so war es mir nicht mehr möglich, die Isolirung auch der Enzyme der Milchsäure- und Essiggährung durch E. Buchner und Meisenheimer (Chem. Ber. 36. 634 1903) ausführlicher zu berücksichtigen. Im folgenden wird diese wichtige Entdeckung natürlich gebührend gewürdigt werden.

Drittes Capitel.

Die chemische Natur der Fermente.

Diese Frage ist zunächst für die „geformten" Fermente in ein paar Worten abgethan. Sie sind als Bestandtheile des Protoplasma der chemischen Untersuchung überhaupt nicht zugänglich.

Es handelt sich also im Wesentlichen um die Enzyme. Während nun manche, besonders französische Forscher (Arthus) die Enzyme als immaterielle Energiecentren auffassen, die an ein für ihre Wirkung gleichgiltiges Substrat gebunden sind und sogar Fernwirkungen auszulösen im Stande sein sollen [1]), halten die Meisten die Enzyme für wirkliche chemische Stoffe.

Welcher Art aber diese Stoffe sind, darüber hat der lange Streit noch gar keine Entscheidung gebracht.

Die an und für sich schon grossen Schwierigkeiten derartiger Untersuchungen werden dadurch noch verzehnfacht, dass es unendlich schwierig ist, die Fermente von Beimengungen zu befreien. Daher kommt es, dass trotz aller Bemühungen auch heute noch kein Ferment in sicher reinem Zustande dargestellt ist.

Die Fermente haben die Eigenschaft, durch fallende Niederschläge

---

1) Man vergleiche dazu die höchst seltsamen Befunde von de Jager, Virch. Arch. **121.** 182 (1890), der eine völlige Immaterialität der Fermente behauptet und nun zur Stütze der Theorie Fernwirkung der Enzyme durch Aether, sogar durch die Luft(!) und Spontanbildung fermentirender Substanzen beobachtet haben will. Eine solche fortgepflanzte Wirksamkeit durch neutrale Medien wurde speciell für das Labferment von Fick angenommen (Pflüg. Arch. **45.** 293 [1889]), der fand, dass Milch, die vorsichtig über wirksame Fermentlösung geschichtet wurde, doch sofort ganz gerinnt, obwohl also die oberen Schichten nicht mit dem Ferment so schnell in Berührung traten; diese interessante Beobachtung wurde indessen von Latschenberger (C. f. Phys. IV. Nr. 1 [1890]) und Lea und Dickinson (J. of physiol. XI. 307) widerlegt, die zeigten, dass, wenn man wirklich die Mischung verhütet, eine Gerinnung der oberen Schichten erst nach mehreren Stunden eintritt. S. d. auch Walther Pflüg. Arch. **48.** 529.

aus ihren Lösungen mitgerissen zu werden, was besonders ihre Trennung von Eiweissstoffen erschwert. Ferner darf die Temperatur bei allen Manipulationen niemals über 80° hinausgehen, weil bei dieser Erwärmung die Fermente unwirksam werden und dann jede Möglichkeit ihrer Erkennung verloren geht.

So ist es denn nicht zu verwundern, wenn auch heute noch nicht einmal die erste Frage, ob man die Fermente als Eiweisssubstanzen anzusehen hat, eine befriedigende Lösung gefunden hat.

Die alten Beobachter hielten ohne Weiteres die Fermente für „albuminoïde Substanzen“ (Liebig, Robiquet etc.).

Später hingegen traten viele Untersucher sehr energisch dagegen auf; besonders Hüfner für das Pancreatin (Trypsin), Wurtz für das Papayotin, Barth und Zulkowski für die Diastase. Sie stützten sich dabei hauptsächlich auf die von den Eiweisskörpern sehr abweichenden Analysenzahlen.

Alle diese älteren Arbeiten sind indessen heute gegenstandslos geworden, weil es völlig klar ist, dass diese Forscher ausserordentlich unreine, zum Theil besonders viel höhere Kohlehydrate mitführende Präparate vor sich hatten, so dass die Analysenzahlen ohne jeden Werth sind. Ich verzichte deshalb auch auf ihre Mittheilung.[1])

Loew hatte es also nicht schwer, die Bedeutungslosigkeit aller bisherigen Untersuchungen zu erweisen, als er die Behauptung aufstellte, dass die Fermente verschiedene „active Peptone“ seien.

Besonders wichtig für seine völlig berechtigte Kritik war sein Nachweis, dass die sacharificirenden Fermente stets mit unlöslichen Kohlehydraten, namentlich Gummistoffen und Dextrinen verunreinigt sind, was nicht nur sehr störend auf die gefundenen Analysenzahlen, sondern auch auf die Untersuchung der Spaltproducte wirken musste. So führt Loew aus, dass der Befund von Barth, den er gegen die Eiweissnatur der Invertase geltend gemacht hatte, dass er nämlich bei der Spaltung mit Schwefelsäure kein Leucin finden konnte, sich dadurch erklärt, dass etwa vorhandenes Leucin aus dem entstandenen zuckerhaltigen Syrup nicht auskrystallisiren konnte. Er selbst erhielt von der Diastase ein reineres Präparat, das die Reactionen der Peptone (wohl nach der heutigen Anschauung eher der Albumosen) zeigte.

Er nahm für die Entstehung der ungeformten Fermente aus Protoplasmaeiweiss eine „Depolymerisirung“ an, bei der von den ca. 12 Aldehydgruppen, die nach seiner Anschauung[2]) das Protoplasmaeiweiss enthält, nur noch 2—3 enthalten bleiben sollen. Er versucht dann den Nachweis freier Aldehydgruppen in den Enzymen und zeigt, dass actives Pankreasferment mit neutralem Silberoxyd eine intensive Schwärzung ergiebt, während gekochte, also inactivirte Enzymlösungen nur eine sehr schwache Bräunung unter denselben Bedingungen zeigen.

Diese sehr interessante Thatsache stellt den einzigen Befund dar, der einen chemischen Unterschied zwischen wirksamen und unwirksamen Fermenten constatirt. Sie ist allerdings nur einmal, und zwar von

1) Man findet eine Tabelle bei Loew, Pflüg. Arch. 27. 204.
2) Loew, Pflüg. Arch. 22. 503 (1880).

Macfadyen[1]) für Glycerinextracte von Vibrionen, besonders der Cholera bestätigt worden, der sich auch sonst der Loew'schen Anschauung, dass die Fermente „labile" Eiweisskörper sind, anschliesst. Sie sollen diese Natur auch dadurch documentiren, dass sie Aminogruppen enthalten, was Loew[2]) dadurch wahrscheinlich zu machen sucht, dass sie durch Formaldehyd unwirksam werden. Diese gleichzeitige Anwesenheit von Aldehyd- und Amidogruppen soll ihre Labilität bedingen. Nun sollen ja aber die Fermente gar nicht labil sein, sondern beständig, sie sollen ja nur andere labile Molecüle (potentiell-labile nach Loew) zum Einsturz bringen; freilich hat man gute Gründe, anzunehmen, dass sich die Fermente vor ihrer Wirkung an die Substrate binden, womit wohl auch intermediäre Aenderungen ihrer eigenen Structur einhergehen mögen. Doch sind die ganzen Verhältnisse noch viel zu dunkel, um die Loew'sche Anschauung mit Erfolg als heuristisches Princip verwerthen zu können. Was den Ausgangspunkt der theoretischen Betrachtung, die Annahme einer Eiweissnatur der Fermente, betrifft, so haben auch die Loew'schen Versuche die Frage ihrem Abschluss nicht näher gebracht. Dass wirksame Fermente Eiweissreactionen geben, beweist nur, dass auch die sorgfältig gereinigten Fermentlösungen noch Eiweissstoffe enthalten; es kann aber dadurch nicht bewiesen werden, dass diese Eiweisssubstanzen die Fermente selbst sind.

In der That hat man später durch erneute mühsame Reinigungsprocesse, besonders vom Pepsin und der Invertase sehr wirksame Präparate gewonnen, die keine Eiweissreactionen mehr geben. Den oft gemachten Einwand, dass das Ferment selbst in diesem Falle doch noch ein Eiweisskörper sein kann, der nur in so geringer Menge vorhanden ist, dass die üblichen Reactionen versagen, während das Ferment selbst in dieser ungeheuren Verdünnung noch wirkt, kann man leicht widerlegen. Wir haben vor uns eine trockene Substanz, die reichlich in Wasser gelöst, keine Eiweissreactionen mehr giebt, auch nur unbedeutende Mengen von Asche und Kohlehydraten enthält; hier liegt also sicher ein chemischer Stoff eigener Art vor, der nun entweder das Ferment selbst ist, oder an den das Ferment gebunden ist; jedenfalls ist doch in solchem Falle das Ferment kein Eiweisskörper.

Indessen gilt das nicht ohne Weiteres für alle Enzyme. Gerade die letzten Arbeiten über die Diastase (Wróblewski) scheinen zu beweisen, dass die reine Diastase ein albumosenähnlicher Stoff ist, und auch vom Trypsin kann man die Eiweissnatur absolut nicht abstreifen.

Nach Kühne spaltet Trypsin mit Säuren einen Eiweisskörper ab, ist also noch complexer gebaut.

In neuester Zeit hat man für einige Fermente, besonders das

1) Macfadyen, Journ. of Anatomy and physiology 26. 409 (1892).

2) Loew, Science 1899. S. 955. S.-A. Er citirt dort noch einen ähnlichen Befund von Nencki.

Pepsin eine ungemein complicirte Natur angenommen (Pekelharing, Friedenthal, Nencki und Sieber). Nach den letzteren besteht es aus einem Riesenmolecül, das einen Nucleoproteidkern, ferner Chlor und Lecithin gebunden enthält. An diesem Riesencomplex soll auch noch die Labwirkung und die Plasteïnwirkung haften. Abgesehen davon, dass Nencki und Sieber den Beweis für die chemische Individualität nicht geführt haben, ist das „Pepsin" jedenfalls nicht der ganze Complex. Man kann nämlich einen grossen Theil dieser Componenten abspalten, ohne dass der Rest seine peptische Wirkung verliert. Im günstigsten Falle würde es sich also bei diesem Riesenmolecül um eine Verbindung des Pepsins mit anderen Complexen zu einem lockeren System handeln. Friedenthal konnte auch den Nucleoproteïdrest abspalten, ohne das Pepsin zu zerstören (Näheres s. b. Pepsin).

Auch Spitzer nimmt für einen Theil wenigstens der Oxydasen des thierischen Körpers die Constitution von phosphorhaltigen und eisenhaltigen Nucleoproteïden in Anspruch.

Auch für andere Fermente wird jetzt vielfach an einen ausschlaggebenden Gehalt an Eisen gedacht, z. B. für die Lipase (Hanriot).

Die grosse Schwierigkeit der Isolirung der Fermentstoffe und die Eigenart ihrer Wirkungen, besonders aber die grosse Bedeutung, die sie für den Lebensprocess haben, hat einige Forscher zu der Anschauung geführt, das die Fermente auch stofflich in einem sehr viel engeren Connex mit dem Protoplasma stehen, als gemeinhin angenommen wird. Die meisten drücken sich dabei ebenso vorsichtig als unklar dahin aus, dass in den Fermenten „Protoplasmasplitter", begabt mit „Resten von vitalen Kräften" oder dergleichen vorlägen[1]. Mit solchen völlig begrifflosen, absolut jedem empirischen Boden entzogenen Ausdrücken ist aber gar nichts anzufangen, da sie sich jeder Kritik entziehen. Als heuristisches Princip sind sie gänzlich unfruchtbar. Armand Gautier[2]) hat dann diese merkwürdige Ansicht in consequenter Weise verfolgt, indem er den Fermenten nicht nur „Reste" von vitalen Kräften, sondern ein bedeutendes Maass davon zuspricht, da er ihnen sogar die Fundamentalerscheinungen der Zelle, nämlich die Assimilation und Reproduction zuschreibt. Er betrachtet also gewissermassen die Fermente als gelöste Zellen. Diese auf einen einzigen Versuch basirte Hypothese widerspricht alledem, was man in mühsamer experimen-

1) s. z. B. Loew, Pflüg. Arch. 27. 210. A. Mayer, Enzymologie. Heidelberg 1882 u. a.

2) Armand Gautier, cit. n. Effront, „Les diastases", l. c. Das Original war mir nicht zugänglich.

teller Arbeit an Unterschieden in der Beeinflussung lebender Zellen und Fermente aufgefunden hat. Wenn Gautier nicht sehr gewichtige Stützen für seine Anschauung noch in petto hat, so dürfen wir sie wohl als Curiosum bei Seite legen; man sieht indessen, wohin eine consequente Durchführung der Idee von den „Protoplasmasplittern" führt. Eine Erscheinung giebt es allerdings, die, obzwar nicht speciell zu unserem Thema gehörig, die Möglichkeit offen lässt, dass es vielleicht wirklich „gelöste Zellen", d. h. vitale Kräfte in ungeformten Medien geben mag. Ich meine die von Beyerinck[1]) erforschte Mosaikkrankheit der Tabakpflanze, die zweifellos eine contagiöse Affection ist, ohne dass Beyerinck irgend welche Mikroben finden konnte, und die sich nach seiner Ansicht durch ein „Contagium vivum" fortpflanzt, ein Contagium, das sich allerdings sogar durch Alkohol fällen lässt, ohne unwirksam zu werden. Es scheint sich danach doch mehr um eine Intoxication als eine Infection zu handeln. Die ganze Frage ist noch sehr dunkel: Es haben andere Beobachter doch Mikroben gefunden, andererseits können diese sich durch ausserordentliche Kleinheit oder andere Eigenschaften dem Beobachter entziehen.

Wir kennen ja auch nicht die Erreger so zweifellos contagiöser Erkrankungen, wie Scharlach und Syphilis. Auffallend ist allerdings, dass gerade alle diese supponirten äusserst kleinen Mikroben auch auf absolut keinem bekannten Nährboden Culturen erzeugen. Die Möglichkeit ist nicht auszuschliessen, dass auf Grund solcher „flüssiger Contagien"[2]), die vielleicht auch jene Menschenkrankheiten erzeugen, wirklich unsere Vorstellung von der „Zelle" eine so wesentliche Umwälzung erfahren wird, dass thatsächlich vitale Kräfte in ungeformten Medien wirken können. Und dann hätte Gautier's Anschauung auch ihre Berechtigung. Aber auch nur dann kann man sie überhaupt einer ernstlichen Kritik unterziehen. Jedenfalls aber ist sie im Hinblick auf die Möglichkeit solcher abgelösten Lebenscentren ungleich werthvoller, als das haltlose Gerede von „Resten" von vitalen Kräften. Die Fermente sind entweder vital oder sie sind es nicht. Compromisse giebt es da nicht. Vorläufig indessen müssen wir noch an ihrer Lostrennung vom Leben festhalten.

Wir müssen nun noch auf die Vorstellung eingehen, dass die Fermente überhaupt keine materiellen Substanzen, sondern nur Eigenschaften von Substanzen sind, eine Idee, wie sie namentlich von Arthus[3]) in sehr geistvoller Weise verfochten worden ist. Nachdem

1) Beyerinck, C. f. Bact. (II). 1899. 27.

2) Diese ganze Frage ist erschöpfend behandelt in der Arbeit von Joest Centralbl. f. Bact. 31. Heft 8/9 (1902).

3) Arthus, La nature des enzymes. Thèse. Paris 1896.

er in völlig einwandsfreier Weise nachgewiesen hat, dass die Versuche der Reindarstellung und chemischen Individualisirung der Fermente ohne wesentliches Ergebniss geblieben sind, zieht er dann eine Parallele zwischen den einfach physikalischen Kräften und den Enzymen. Gerade wie Licht, Wärme, Elektricität u. s. w. zuerst als Stoffe betrachtet wurden, so ist es auch mit den Fermenten geschehen, und er spricht die Hoffnung aus, dass mit ihnen die Fermente bei fortschreitender Erkenntniss ebenfalls aus der Liste der Materie gestrichen werden und den imponderablen Energien zugerechnet werden müssten.

Mit vollem Recht führt er aus, dass die den Fermenten zugeschriebenen materiellen Eigenschaften auch den Kräften zuerkannt werden können; er weist darauf hin, dass ebenso wie die Wärme die Wirkung der Fermente aufhebt, sie auch, wenn auch bei höherer Temperatur, den Magnetismus vernichtet u. s. w.

Es ist sehr schwer, diesen Gedanken der Immaterialität der Fermente in seinen Consequenzen zu verfolgen; noch schwerer, ihn mit Gründen der exacten Wissenschaft zu bekämpfen. Denn hier handelt es sich um einen Gegensatz, der eigentlich nur scheinbar ist, und bei erkenntnisstheoretischer Betrachtung verschwindet.

Stellen wir uns auf den Boden der energetischen Weltauffassung, die überhaupt die objective Realität der Materie leugnet und ausschliesslich mit Energieverhältnissen operirt, so ist diese Auffassung der Fermente selbstverständlich: wo überhaupt die Materie nur aus Energiecentren besteht, ist auch für eine materielle Auffassung der Fermente kein Raum.

Es fragt sich nur, inwieweit diese Betrachtungsweise innerhalb der dualistischen Anschauungsweise sich als fruchtbringend erweisen kann.

Die Materie ist für diese Anschauung nur ein metaphysisches Postulat; was uns von den Eigenschaften der Materie mit Hilfe unserer Sinne objectiv zum Bewusstsein kommt, sind auch ausschliesslich die Perceptionen von Energieausstrahlungen der Materie, nach denen wir unsere Begriffe formuliren.

Wir können auch die Wirkungen des Lichtes, der Wärme, der Elektricität nicht anders erkennen, als indem wir die Kräfte uns an materiellen Substraten wirksam vorstellen. Wir fassen die Wärme auf als Schwingungen der materiellen Molecüle, den Schall als Schwingungen der Luft; auch für das Licht und die Elektricität haben wir uns die Vorstellung eines materiellen Etwas gemacht, des hypothetischen Aethers. In diesem Sinne können wir uns auch die Fermentwirkungen nicht ohne ein irgendwie beschaffenes materielles

Substrat vorstellen. Wenn wir diesen Gedanken weiter verfolgen, so kommen wir zu einem Vergleich mit den Erscheinungen, die den Fermentwirkungen am nächsten stehen, den Kraftentfaltungen der chemischen Energie. Es ist auffallend, dass Arthus gerade dem Verhältniss der Fermentwirkungen zu den einfachen chemischen Vorgängen in theoretischer Hinsicht nicht mehr Beachtung geschenkt hat. Die chemische Energie steht im engsten Connex mit den anderen Energieformen, mit denen sie sich im mannigfaltigsten Wechsel austauschen kann. Wo chemische Energie (Spannkraft) sich bildet, verschwindet andere (Licht, Wärme), wo chemische Spannkräfte sich ausgleichen, werden andere Energieformen in Freiheit gesetzt, und doch ist sie ganz besonders in ihrer Anschauungsform an materielle Substrate gebunden. Wenn wir z. B. von Schwefelsäure sprechen, die wir doch materiell auffassen wollen, so sprechen wir eigentlich stets ganz allein von den Energiebeziehungen dieses chemischen Substrates. Wir wissen, dass dieses Substrat einen besonderen Geschmack hat — Ausstrahlung eines eigenartigen Reizes auf die Perceptionsorgane des Geschmacks —, dass sie sich mit Basen verbindet, andere Säuren aus ihren Salzen verjagt etc.: alles energetische Vorstellungen, die aber für unsere Anschauung trotzdem fest mit dem materiellen Begriff „Schwefelsäure“ verbunden sind. Eine Schwefelsäurewirkung ohne Schwefelsäure ist uns empirisch undenkbar. Und wir wissen ferner, dass das Energiesubstrat, das wir Schwefelsäure nennen, Erscheinungen hervorzurufen im Stande ist, die andere ähnliche Energiesubstrate nicht erzeugen können. Und darum nehmen wir eben für die energetische Individualität auch eine materielle Individualität an und nennen eben dieses materielle Substrat im bewussten Gegensatz zu allen anderen materiellen Substraten Schwefelsäure.

Ganz analog verhält es sich m. E. mit den Fermenten. Gesetzt den Fall, es gäbe ein absolut reines, von allen Beimengungen befreites Pepsin, so würden wir dies materielle Substrat auch nur dadurch individualisiren können, dass wir ihm allein zukommende, specifische Energieausstrahlungen finden, also u. a. die Fähigkeit, den Zerfall von Eiweisssubstanzen zu veranlassen. Wir würden dann wie bei der Schwefelsäure aus den specifischen Energiewirkungen den Rückschluss machen auf eine materielle Individualität und würden diesen Stoff empirisch als chemisches Individuum, als materielles Pepsin bezeichnen.

So ist das Ferment als wirkendes Princip ebensowohl energetisch zu begreifen, wie die einfache Schwefelsäure; ein Grund, gerade diese specielle energetische Wirksamkeit von dem Begriff der Materie auch empirisch loszulösen, wie er erkenntnisstheoretisch davon losgelöst

werden muss, liegt nicht vor; eine solche Auffassung würde nur zu einer Verwirrung zwischen unserer grob sinnlichen Vorstellung einer „chemischen Substanz“ und dem metaphysischen Verhältniss zwischen Materie und Energie führen.

Auch als heuristisches Princip würde uns diese Anschauungsform, abgesehen von ihrer metaphysischen Unhaltbarkeit nicht weiter führen.

Etwas anders gestaltet sich die Fragestellung, wenn wir das Problem rein empirisch fassen. Dann ist die Frage nicht mehr: Sind die Fermente Stoffe oder Eigenschaften von Stoffen? sondern dann heisst es: Sind die materiellen Substrate, an die wir die Fermentwirkungen gebunden glauben, für jedes einzelne Ferment bestimmte „chemische Stoffe“, oder kann sich diese Energieform als Substrat verschiedenartiger Stoffe bedienen?

Diese Frage wird sich vermuthlich experimentell entscheiden lassen. Indessen lassen sich a priori einige Betrachtungen aufstellen, welche es wahrscheinlich machen, dass die Fermente, materiell betrachtet wirkliche Stoffe sind. Wenn wir z. B. annehmen, dass die Wirkung der Diastase an einen Eiweisskörper gebunden ist, so zeigt dieser Eiweisskörper eben dadurch, dass er ausser den gewöhnlichen Eiweissreactionen noch die Eigenschaft aufweist, Stärke zu lösen, dass er eben von den anderen, dazu nicht fähigen Eiweisssubstanzen sich auch materiell irgendwie unterscheidet; er ist deshalb auch materiell ein chemisches Individuum, geradeso wie wir zwei Zucker von sonst gleicher Natur, die eine durchaus verschiedene Drehung der Polarisationsebene zeigen, eben auch als chemische Individua von einander trennen, obwohl sie sich nur durch eine rein physikalische Eigenschaft unterscheiden. Gerade, wie wir annehmen, dass solche Unterschiede durch Atomgruppirungen eigener Art bedingt sind, so müssen wir auch die Fähigkeiten der Fermente auf bestimmte atomistische, also vom empirischen Standpunkt aus materielle Verhältnisse zurückführen. Dafür spricht vor Allem die Specifität der Fermentwirkungen. Gerade wie wir auch auf specifische Reactionen die chemische Individualität der Schwefelsäure basiren, so haben wir auch bei den Fermenten ein Recht, aus den specifischen Reactionen auf specifische materielle Substrate zu schliessen. Ob diese nun ganz einheitlich sind, ob es nur eine chemisch einheitliche Diastase etc. giebt, oder ob die stärkelösende Wirkung ein „Gruppenreagens“ ist, so dass es ganze Reihen von Diastasen geben mag, ist für die Frage gleichgültig, im Uebrigen nicht unwahrscheinlich. Dass es sich ferner hier nicht um frei herumvagirende Energiemassen handelt, ergiebt sich empirisch daraus, dass, wie der Schall nur in seinem Substrat, der Luft, sich verbreitet, auch

die Fermentwirkungen niemals über die räumlichen Grenzen des materiellen Bereiches hinaus sich erstrecken.

Für die Materialität der Fermente sprechen auch physiologische Erwägungen, so besonders, dass die Enzyme echte Secrete sind, die dann besonders gebildet werden, wenn der Organismus sie braucht (s. u.). Es ist sehr schwierig, sich diese Thatsache anders zurechtzulegen, als dass hier eben physiologische nothwendige Stoffe secernirt werden. Und warum geht die „Energie" der Hefeinvertase erst dann an das Wasser über, wenn man die Hefezelle tötet? Alle diese Fragen lassen sich von dem angeführten Standpunkt kaum beantworten, ebensowenig die Existenz von „Fermentimmunität" und „Antifermenten".

Am meisten wird immer von den Verfechtern dieser Anschauung der Vergleich mit dem Magneten herangezogen, dessen Magnetismus ihm ja stofflich kein specifisches Gepräge verleiht, sondern ihm nur als eine physikalische Eigenschaft anhaftet.

Indessen liegt doch hier die Sache anders als bei den Fermenten. Man kann durch geeignete Mittel dem Magneten seine Eigenschaft nehmen und sie ihm wiedergeben. Aber wo kann man das bei irgend einem Ferment? Kein Mittel giebt es, um einem einmal inactiv gewordenen fermentirenden Material, wenn das Ferment wirklich zerstört ist, seine specifische Wirksamkeit wiederzugeben. Ausserdem erstreckt doch der Magnetismus seinen Einfluss nur auf intacte Molecüle, nicht aber hat er die Fähigkeit in den Aufbau der einzelnen Molecüle selbst einzugreifen und Verschiebungen der Atome vorzunehmen. Wir müssen also bei der Betrachtung der Fermentwirkungen uns stets an die nächstverwandte, die chemische Energie halten. Und wie uns bei dieser die specifische Wirkung Grund giebt zu einer materiellen Individualisirung, so ist es auch bei den Fermenten. Wir haben allen Grund anzunehmen, dass die specifische Wirksamkeit zurückzuführen ist auf specifische materielle Construction, auf eine eigenartige Gruppirung der Atome. Wir werden auf diese Frage später ausführlicher eingehen.

Wir sehen also, wie schief die ganze Fragestellung nach der Materialität der Fermente ist: Erkenntnisstheoretisch ist sie unhaltbar, aber auch rein empirisch führt sie uns nicht im Geringsten weiter. Sie könnte höchstens das unerfreuliche Resultat haben, dass die lebhaften Bemühungen, die materiellen Fermentsubstanzen als chemische Individuen zu isoliren, von vornherein desavouirt würden.

Auf einem experimentell so unsicheren Terrain sollte man es auch aus praktischen Gründen möglichst vermeiden, eine Theorie aufzustellen, die nicht als heuristisches Princip weiterführen kann, wie es die Theorie

von der „Immaterialität der Fermente“ thatsächlich nicht thun kann, die im Gegentheil von immer neuen Experimentaluntersuchungen geradezu abschrecken würde. Gestützt wird diese Anschauung nur dadurch, dass man eben noch kein Ferment in reinem Zustande kennt; es ist deshalb vor der Hand unmöglich, andere Erkennungsreactionen anzugeben, als eben ihre Wirkung, und dadurch wird es erklärlich, wenn man über der Wirkung die Substanz vergisst. Wir müssen indessen daran festhalten, dass die Fermente wirkliche chemische Stoffe, sei es von eiweissähnlicher oder anderer Natur sind. Bekannt sind sie uns allerdings noch in keinem Falle mit Sicherheit. Wir sehen uns genöthigt, das Thema: „Chemische Natur der Fermente“ noch mit vielen Fragezeichen zu versehen.

Von ihren Eigenschaften ist also auch nur wenig anzugeben. Sie sind löslich in Wasser und wässrigem Glycerin, sowie neutralen Salzlösungen, schwachen Alkalien und Säuren. Sie bilden indessen keine echten Lösungen, sondern sind in colloidalem Zustande, also in feinster Vertheilung corpusculärer Elemente suspendirt (Bredig).

Durch Alkohol sind sie fällbar, aber nicht vollständig. Nach Dastre[1]) ist Trypsin in 40%, Pankreasdiastase in 60% Alkohol löslich. Speicheldiastase ist nach de Jager[2]) in Alkohol löslich (sogar in absolutem??). Pepsin nach Bardet[3]).

Ferner fallen sie meist mit aus, wenn man in ihrer Lösung Niederschläge hervorruft, wie z. B. phosphorsauren Kalk oder Eiweissfällungen. Einige Farbenreactionen, die sie geben sollen, z. B. die verschiedene Färbung mit Orcin und Salzsäure, sowie ihre Fähigkeit Guajactinctur zu bläuen, sind wahrscheinlich nicht Reactionen der Fermente selbst, sondern von Beimengungen bedingt.

Im Uebrigen hat man die Beeinflussung der Fermente durch verschiedene physikalische und chemische Agentien bisher nur an der Veränderung ihrer Wirksamkeit studiren können.

Dialysirbarkeit der Enzyme. Aus den verschiedenen Untersuchungen geht hervor, dass eine geringe Diffusibilität wohl den Fermenten zugeschrieben werden muss.

Sie ist bei den einzelnen indessen verschieden gross, hängt ferner auch von der Art der Membran ab. Nach Fermi und Pernossi[4]) geht Pepsin durch Papier de la Rue, nicht aber durch gutes Pergament.

1) Dastre, C. R. soc. biol. 17. 111 (1895). Arch. d. phys. (5) VIII. 120 [illegible]
2) de Jager, Virch. Arch. 121. 183 (1890).
3) Bardet, Bull. d. la soc. d. Thérap. XVIII. 13 (1887), citirt n. Dastre l. c.
4) Fermi und Pernossi, Z. f. Hyg. XVIII. 106 (1894).

Nach denselben Autoren passiren die meisten Fermente durch Porzellanfilter.

Von dem pflanzlichen Labferment giebt Lea[1]) an, dass es ebenso wie thierisches durch Kaolinfilter zurückgehalten wird. Chodjujew[2]) kommt zu dem Resultat, dass die Fermente zwar dialysirfähig sind, aber ausserordentlich langsam. Auch diese Eigenschaft, am bequemsten die Filtration durch Porzellanfilter, ist ein Mittel, um enzymatische Wirkungen von vitalen Kräften lebender Zellen zu trennen, und wird neben der wirksameren Vergiftung der Zellen (s. u.) vielfach zu diesem Zwecke benutzt.

1) Lea, Proceed. Royal Soc. Lond. 36. 55 (1883).
2) Chodjujew, Arch. d. phys. 1898. 241 (dort Litteraturübersicht).

Viertes Capitel.

Beeinflussung der Fermentwirkung durch äussere Factoren.

[illegible] durch physikalische und chemische Agentien [illegible] beeinflusst. Die ungeformten Fermente ver[illegible] Beeinflussungen sehr verschieden; sie sind mehr [illegible] am empfindlichsten gegen alle Einwirkungen ist [illegible] Die geformten Fermente werden mit dem [illegible] Mutterzelle sehr viel leichter geschädigt. [illegible] Einwirkungen ein Schema aufgestellt. Er [illegible]

[illegible] Momente[2]) sind diejenigen, die die un[illegible] Profermente[1]) in die activen Fermente über[illegible] namentlich verdünnte Säuren.

[illegible] zymodynamogene (Arthus) Agen[illegible] fördern, resp. beschleunigen: als solche [illegible] Erwärmung, ferner verdünnte Säuren, [illegible] auch verdünnte Alkalien (Trypsin) und

[illegible] von Arthus. Sie beeinflussen die [illegible] Wenn sie die Fermentwirkung [illegible] zu vernichten, so nennt sie [illegible] besonders die Kälte, Alkalien [illegible] eine gewisse Concentration

[illegible] völlige Zerstörung des Ferments [illegible] hohe Temperatur der Lösung,

[illegible]

[illegible] von Arthus (Nature [illegible] unterschieden [illegible]

Einwirkung physikalischer Agentien auf die Enzyme. Eine der hervorstechendsten Eigenschaften aller Enzyme ist ihre Empfindlichkeit gegen höhere Temperaturen, wenn sie gelöst sind. Alle Enzyme zeigen ein Optimum ihrer Wirkung zwischen 35 und 45°, darunter fällt ihre Activität schnell, um bei 0° sehr gering zu sein, bei höheren Temperaturen tritt eine immer rapidere Zerstörung des Fermentes ein. Während man aber trockene Enzyme stark, manche bis weit über 100° erhitzen kann, ohne dass ihre Kraft darunter leidet (Hüfner[1]), Salkowski[2])), werden sie ausnahmslos in wässeriger Lösung bei ca. 70° zerstört. In anderen Lösungen, besonders in Amylalkohol sollen sie beständiger sein.[3]) Nach Pavy[4]) erträgt Pankreas- und Leberdiastase das Sieden in absolutem Alkohol. Die einzelnen „Tötungs"temperaturen sind innerhalb ziemlich enger Grenzen für die verschiedenen Fermente schwankend, die Angaben darüber widersprechen sich vielfach, besonders da diese Temperatur ausserordentlich weitgehend von Beimengungen beeinflusst wird. Die Wirkung ist keine plötzliche, sondern nach allmählicher Abschwächung tritt schliesslich der „Tod" ein. Allgemein ist die Tötungstemperatur höher, wenn das Ferment in der Mischung mit seinem Substrat erhitzt wird, also z. B. Diastase mit Stärkekleister etc.

Sehr tiefe Temperaturen wirken nach d'Arsonval[5]) bis —50° auf die Enzyme nicht ein; bei —100° wird Invertase unwirksam, Hefe dagegen nicht. Pozersky[6]) fand, dass eine Temperatur von —190° die Enzyme nicht dauernd schädigt.

Das Sonnenlicht zerstört gleichfalls die Enzyme in wässeriger Lösung schnell, nicht aber in trockenem Zustande, oder in indifferenten Lösungsmitteln.[3]) Doch ist nach Emmerling[7]) die Wirkung nur bei Hefenmaltase und Lab irgendwie erheblich, wenn man Bacterien und Luft sorgfältig abschliesst.

Die Einwirkung des Sonnenlichtes auf Diastase hat ferner Green[8]) genau untersucht (s. b. Diastase).

Einwirkung von Säuren und Basen. Ueber diese Frage liegt

1) Hüfner, J. pr. Ch. N. F. V. 372.
2) Salkowski, Virch. Arch. 70. 158.
3) Fermi und Pernossi, Ztschr. f. Hyg. XVIII. 83 (1894).
4) Pavy, Journ. of physiol. XXII. 391. (1898),
5) d'Arsonval, C. R. soc. biol. 44. 808 (1892).
6) Pozersky, C. R. soc. biol. 52. 714 (1900).
7) Emmerling, Chem. Ber. 34. 3811 (1901).
8) Green, Philos. Transact. 188. 167 (1897).

eine gewaltige Litteratur vor, die in ihren Hauptzügen bei der Besprechung der einzelnen Fermente abgehandelt werden wird.

Das Einzige, was ganz sicher festgestellt ist, ist die **Zerstörung aller Fermente durch Mineralsäuren und Alkalien in starker Concentration.**

Ferner scheint es sicher, dass sehr verdünnte Säuren alle Fermente zu energischerer Thätigkeit anregen.

Der Wirkungsgrad einzelner Säuren und der verschiedenen Concentrationen auf die einzelnen Fermente ist so schwankend, und die Angaben darüber so controvers, dass es unmöglich erscheint, allgemeine Schlüsse daraus zu ziehen. Im Allgemeinen scheinen die organischen Säuren weniger energisch zu wirken, als die Mineralsäuren. In Betreff der Kohlensäure sind die Angaben besonders widerspruchsvoll.[1])

Alkalien, selbst in beträchtlicher Verdünnung, scheinen nur für das Trypsin und die ihm ähnlichen Fermente dienlich zu sein; die anderen werden meist dadurch geschädigt.

In Bezug auf die Förderung der tryptischen Verdauung durch Alkalien ist eine Gesetzmässigkeit von Dietze[2]) und Kanitz[3]) aufgestellt worden. Nach den Untersuchungen von Kanitz ist die Wirkung der Basen und Carbonate nur abhängig vom Hydroxylion; und zwar ist in allen Fällen [$Ca(OH)_2$, $Sr(OH)_2$, $Ba(OH)_2$, Na_2CO_3, K_2CO_3], das Optimum der Wirkung bei einer Concentration des Hydroxylions von $^1/_{70}$ — $^1/_{200}$ normal.

Einwirkung von Neutralsalzen auf die Fermente. Derartige Untersuchungen sind in grosser Zahl ausgeführt[4]) worden, worüber bei den einzelnen Fermenten Näheres zu finden ist.

Herausgekommen ist bei all' den fast unübersehbaren Einzeluntersuchungen herzlich wenig.

Die Salze scheinen viel weniger nach physikalisch-chemischen Gesetzen, also etwa abhängig von der Molecularconcentration, als vielmehr nach specifisch chemischen Gesichtspunkten zu wirken, nur so ist wenigstens die grosse Verschiedenheit der Wirkung verschiedener Salze auf dasselbe Ferment und desselben Salzes auf verschiedene Fermente bei gleicher Concentration zu erklären.

Ferner ist auch die Concentration des der Fermentation unterliegenden Stoffes von Einfluss, worauf u. A. die Beobachtungen von

1) s. dar. bes. Schierbeck, Scand. A. f. Phys. III. 344.
2) Dietze, Diss. Leipzig 1900 cit. n.
3) Kanitz, Z. phys. Ch. 37. 75 (1902).
4) Die umfassendste wohl von Fermi u. Pernossi, Z. f. Hyg. XVIII. 96 (1894)

Kübel[1]) hindeuten, der fand, dass der Einfluss des Kochsalzes auf die Speicheldiastase mit der Concentration des Stärkekleisters schwankt. Vor allem aber sprechen dafür die interessanten Feststellungen von Henri für die Invertase (s. dort).

Im Allgemeinen wirken verdünnte Salzlösungen fördernd auf die fermentativen Processe; bei einer gewissen Concentration beginnt jedoch stets ein hemmender Einfluss, der schliesslich zu einer völligen Aufhebung führt.

Auch der Einfluss der Schwermetallsalze ist vielfach untersucht und ebenfalls sehr schwankend gefunden worden.

Eine hindernde Wirkung auf sämmtliche untersuchten Enzyme schreibt Dumas[2]) dem Borax zu, nur die Alkoholgährung soll er nicht hindern (Schützenberger[3])).

Man hat verschiedentlich versucht, nach den Gesetzen dieser Beeinflussung zu forschen. Eine Idee von Nasse[4]), dass die Salze nach Maassgabe ihrer wasserentziehenden Kraft, die sich ausdrückt in der verminderten Dampfspannung, auf die Fermente schädlich wirken, fand er selbst mit den Thatsachen nicht vereinbar.

Von anderer Seite wurde verschiedentlich die Vermuthung ausgesprochen, dass die Fermente wirkliche, mehr oder minder feste Verbindungen mit den Salzen eingehen dürften, doch sind auch für diese naheliegende Ansicht Beweise nicht erbracht.

Einfluss von Protoplasmagiften. Während die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen durch mannigfache Gifte gelähmt wird, sind die Enzyme dagegen relativ unempfindlich. Es war also ein grosser Fortschritt, als man lernte, bei Fermentversuchen die Thätigkeit von Mikroben (besonders der Fäulniss) auszuschalten, um die reine Enzymwirkung zu erkennen.

Dazu dienen hauptsächlich Alkohol, Aether, ätherische Oele (Bouchardat[5])), Salicylsäure (Kolbe[6])), Thymol (Lewin[7])), Chloroform (Müntz[8]), Salkowski[9])), Toluol (E. Fischer[10])),

1) Kübel, Pflüg. Arch. 76. 276.
2) Dumas, Compt. rend. 75. 295.
3) Schützenberger, l. c. S. 246.
4) Nasse, Pflüg. A. XI. 145 (1875).
5) Bouchardat, Ann. d. chim. et phys. (3) XIV. 61.
6) Kolbe u. s. Schüler, J. pr. Ch. N. F. X. XI. XII.
7) Lewin, C. med. Wiss. 1875. 324.
8) Müntz, C. R. 80. 1250 (1875).
9) Salkowski, Dtsch. med. Woch. 1888. 16.
10) E. Fischer u. a. Z. phys. Ch. 26. S. 75 (1898).

Fluornatrium (Tappeiner[1]) Arthus und Huber[2])), Calomel (Wassilieff[3])), Sublimat[4]), Natriumazoimid (Loew[5])).

Doch liegen zahlreiche Beobachtungen vor, dass diese Gifte die Enzyme nicht ganz unbeeinflusst lassen, sondern ihre Wirksamkeit, wenn auch nicht sehr intensiv, schädlich beeinflussen[6]); dies gilt besonders von der Salicylsäure[7]), dem Phenol[7]) (Plugge[8])), dem Thymol[9]) und dem Chloroform[10]), sowie dem Fluornatrium (Pavy[11])), während das Toluol am indifferentesten zu sein scheint.

Alkohol, den man früher häufig zur Fernhaltung unerwünschter Mikroben angewendet hatte, wirkt meist auch auf die Enzyme schädlich, am wenigsten, wie es scheint, auf Pepsin (Buchner[12])), energischer auf Diastase (Watson[13])) und Invertase (A. Mayer[14])). Maltase zerstört er sehr schnell (E. Fischer l. c.), doch nur bei Gegenwart von Wasser (Hill[15])). Nach Linossier[16]) wirkt er auf alle Enzyme schädlich, weniger Methylalkohol, mehr die höheren Alkohole, soweit sie in Wasser löslich sind. Blausäure hemmt die Fermentthätigkeit wenig oder gar nicht, vernichtet aber die Fähigkeit der Zerlegung von Wasserstoffsuperoxyd (Fiechter[17])), ähnlich Cyanamid, Acetonitril und Hydroxylamin (Jacobson[18])). Doch genügt ein einfacher Luftstrom, um die Blausäure zu verjagen und die Fähigkeit zu restituiren. Es scheint hier eine Art von lockerer Verbindung vorhanden zu sein. Dass Formaldehyd die Fermente unwirksam macht, und dass Loew daraus Schlüsse auf vorhandene Amidogruppen zieht, haben wir bereits erwähnt.

1) Tappeiner, Arch. f. exp. Path. 27. 108 (1890).
2) Arthus und Huber, Arch. de physiol. [5] IV. 651 (1892).
3) Wassilieff, Z. phys. Ch. VI. 112 (1882).
4) Mrotschkowsky, Unorganis. Ferm. Diss. Petersb. 1891; cit. n. Kionka, Dtsch. med. Woch. 1896. 612.
5) Loew, Chem. Ber. 24. 2947 (1891).
6) Treyer, Arch. d. phys. 1898. 672.
7) Müller, Journ. pr. Ch. X. Neue Folge 444.
8) Plugge, Pflüg. Arch. V. 519.
9) [illegible] A. Schlesinger, Virch. Arch. 125. 340.
10) [illegible] A Pugliese, Pflüg. Arch. 69. 115 (1898).
11) [illegible] Journ. of physiol. XXII. 391 (1898).
12) [illegible] Arch. f. klin. Med. 29. 537.
13) [illegible] Journ. Chem. Soc. 35. 539 (1879).
14) [illegible] Enzymologie. Heidelb. 1882. S. 13.
15) [illegible] Chem. Soc. 73. 634 (1898).
16) [illegible] Soc. Biol. 51. 887 (1899).
17) [illegible] Blaus. auf Fermente. Diss. Basel 1875.
18) [illegible] XVI. 367 (1892).

Alkaloide wirken in der verschiedensten Weise, bald fördernd, bald hemmend (Nasse[1]), Schultz-Schultzenstein[2]) etc.).

Gerbsäure hemmt die Wirkung (Schultz-Schultzenstein[2])). Phenol soll nach Zapolski[3]) Pepsin, aber nicht Diastase störend beeinflussen, was auch Detmer[4]) für die Diastase bestätigt.

Nasse und seine Schüler haben die gleichzeitige Beeinflussung entgegengesetzt wirkender Factoren auf Fermente geprüft. Sie fanden dabei einen echten Antagonismus: Wenn man ein Enzym gleichzeitig mit einem fördernden und einem hemmenden Mittel versetzt, so ist ceteris paribus die schliessliche Endwirkung gleich dem arithmetischen Mittel beider Wirkungen.

Solche Versuche hat z. B. Baum[5]) an der Invertase angestellt. Chlorkalium wirkt in bestimmbarer Weise fördernd, Chlorammonium hindernd. Aehnliche Antagonisten sind Chinin und Curare. Die gleichzeitige Beeinflussung des Fermentes geschieht dann in angegebener Weise. Nasse[6]) hat diese Versuche im Hinblick auf die Frage nach der Beeinflussung der lebenden Zelle durch Gifte und Gegengifte verwerthet.

Einwirkung der von den Fermenten erzeugten Abbauproducte auf ihre weitere Thätigkeit. Im Allgemeinen scheinen die Fermente von den durch sie erzeugten Producten in ihrer Activität nicht grade wesentlich gehemmt zu werden.

Eine Ausnahme muss diese Regel natürlich dann erleiden, wenn die sehr empfindlichen Fermente in engem Connex mit der sie erzeugenden Zelle durch bei ihrer Wirkung gebildete Gifte zerstört werden. So wird die Hefewirkung auf Traubenzucker bei einer gewissen Concentration des erzeugten Alkohols schliesslich erlahmen.

Sind die erzeugten Stoffe Säuren, so ist die Hemmung der Enzymwirkung noch leichter zu verstehen, wie dies bei der Essiggährung und der Milchsäuregährung naturgemäss der Fall ist, wenn auch gerade bei der Essiggährung die Anpassung eine grosse Gewöhnung an die Säure bedingt. So hemmt auch die entstehende Salicylsäure die Leberoxydase (Medwedew[7])).

1) Nasse, Pflüg. Arch. XI. 159 (1875).
2) Schultz-Schultzenstein, Z. phys. Ch. XVIII. 131 (1894).
3) *Zapolski, Hoppe-Seyler's Medic. chem. Unters. IV.
4) Detmer, Z. phys. Ch. VII. 1 (1882).
5) Baum, „Antagonismus". Inaug.-Diss. Rostock 1892.
6) Nasse, Maly's Jb. 1892. 584.
7) Medwedew, Pflüg. Arch. 74. 193 (1899).

Dagegen wird z. B. die Diastasewirkung durch den aufgehäuften Zucker nicht gehemmt.[1])

Die Peptone scheinen im Gegentheil nicht nur auf die proteolytischen Fermente, sondern auch auf andere fördernd zu wirken[2]); im Gegensatz zu Kühne, der für die Peptone einen hemmenden Einfluss angenommen hat.

Dagegen hat Tamman[3]) für das Emulsin einen exquisit schädigenden Einfluss der Spaltproducte nachgewiesen, und zwar sowohl dadurch, dass bei künstlichem Zusatz die Wirkung gehemmt wurde, als auch dadurch, dass sie nach Entfernung der gebildeten Producte lebhafter wurde. Fügte er einem Amygdalin-Emulsingemisch eins der Spaltungsproducte bei, so wurde die Spaltung behindert, und zwar am energischsten durch die Blausäure, weniger durch Benzaldehyd, am wenigsten durch Traubenzucker. Aber auch dieser wirkte noch energischer als Aether und Alkohol. Leider hat er keine Versuche mit dem Benzaldehyd ähnlichen, aber nicht specifischen Spaltproducten gemacht; es ist leicht möglich, dass er z. B. mit Nitrobenzaldehyd oder dergleichen ähnliche Hemmungen erzielt hätte. Alkohol und Aether waren doch jedenfalls keine geeigneten Vergleichsobjecte. Aehnliche Resultate erhielt er für Salicin. Eine hindernde Wirkung der Glucose bei der Maltasewirkung fand Hill[4]); dasselbe für den Invertzucker bei der Wirkung der Invertase Müller-Thurgau[5]).

Die Schädigung des Fermentes durch die Spaltproducte ist deswegen theoretisch von grosser Bedeutung, weil dadurch der sonst unter dem Einfluss des Katalysators sich schneller als bei Spontanverlauf einstellende Gleichgewichtszustand scheinbar früher erreicht wird, so dass dadurch Unterschiede im quantitativen Reactionsverlauf vorgetäuscht werden. Denn durch die schädliche Beeinflussung, event. völlige Ausschaltung des Fermentes durch die Spaltproducte wird bedingt, dass der Process nunmehr in dem sehr viel langsameren Tempo weitergeht, wie er sich ohne Katalysator vollzogen hätte. Durch Entfernung der Spaltproducte, eventuell auch Verdünnung lässt sich das scheinbare Gleichgewicht beseitigen. Aehnliches kommt auch bei anorganischen Katalysatoren vor.

So wird nach Bredig (l. c.) die Katalyse von H_2O_2 durch Silbersol bisweilen dadurch gehemmt, dass das H_2O_2 das colloidale Silber auflöst.

Noch charakteristischer ist folgendes Beispiel: Die Zersetzung von

---

1) s. dazu Wortmann, Z. phys. Ch. VI. 324; vgl. jedoch bei Diastase.
2) u. A. Chittenden und Ely, Journ. of physiol. III. 327.
3) Tamman, Z. phys. Ch. XVI. 291 (1892).
4) Hill, Journ. Chem. Soc. 73. 634 (1898).
5) Müller-Thurgau, Thiel's Landwirthsch. Jahrb. 1885. 795.

Jodwasserstoff durch H_2O_2 erfolgt am besten in schwach essigsaurer Reaction bei Gegenwart von Ferrosulfat. Jedoch tritt hierbei nach kurzer Zeit Bildung von basischem Ferriacetat auf: der Katalysator verschwindet, die Beschleunigung hört auf (Brode[1]).

Einwirkung anderer chemischer Agentien. Dass comprimirter Sauerstoff die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen schädigt, ohne die Enzyme zu tangiren, hat Paul Bert[2]) angegeben.

Später hat man wiederholt die Einwirkung von Gasen auf Fermente untersucht; Nasse[3]) fand schädigenden Einfluss von Sauerstoff und Kohlenoxyd auf Invertase. Fermi und Pernossi[4]) konnten einen schädlichen Einfluss von Schwefelwasserstoff nur auf die gelatinelösende Wirkung einiger Bacterien, nicht aber auf die untersuchten Enzyme (Pepsin, Trypsin, Diastase, Emulsin) constatiren.

Eine interessante Thatsache ist, dass normales Blutserum eine je nach den Umständen mehr oder minder stark hemmende Einwirkung auf die Thätigkeit der Fermente hat (Pugliese und Coggi[5]), Hahn[6]), Camus und Gley[7]), Röden[8]) u. A.).

Man ist jetzt geneigt, diesen Einfluss auf das Vorhandensein von normalen Antifermenten im Blute zurückzuführen (s. u.).

Gegenseitige Beeinflussung der Fermente. Ueber diese wichtige Frage liegt nur ein spärliches, sich theilweise widersprechendes Material vor.

Sichergestellt ist nur das Eine, dass Pepsin einige ungeformte Fermente, z. B. Diastase, besonders leicht aber Trypsin schädigt, umgekehrt dagegen Trypsin auf Pepsin fast gar nicht einwirkt. Trypsin zerstört dagegen Buchner's Zymase; ebenso thun dies die proteolytischen Fermente der Bacterien und der Hefe selbst. Andererseits ist Pepsin an sich wirkungslos auf die Milchsäuregährung. Es ist in allen diesen Fällen schwer, die deletäre Wirkung der Säure an sich, ohne die das Pepsin nicht wirkt, bei diesen Processen in Abrechnung zu bringen, so dass man aus der Zerstörung von Enzymen durch Pepsin, selbst wenn sie nicht wie bei der Diastase bestritten wird, einen Rückschluss auf die eiweissähnliche Natur der Enzyme selbst nicht machen darf.

---

1) Brode, Z. f. physikal. Ch. 37. 257 (1901).
2) Bert, C. R. 80. 1579.
3) Nasse, Pflüg. Arch. XV. 471.
4) Fermi und Pernossi, Zeitschr. f. Hyg. XVIII. 92. (1894).
5) Pugliese und Coggi, Maly's Jb. 1897. 832.
6) Hahn, Berl. klin. Woch. 1897. 499.
7) Camus und Gley, C. R. soc. biol. 49. 825 (1897).
8) Röden, Maly's Jb. XVII. 160 (1887).

Vor kurzem haben Wróblewski, Bednarski und Wojczynski[1]) diese Frage einer umfassenden Untersuchung gewürdigt. Man findet dort auch die gesammte frühere Litteratur. Ihre Befunde sind folgende:

Pepsin schädigt Trypsin und Diastase, nicht Lab, Emulsin, Invertase.

Trypsin wirkt nur auf Pepsin.

Alle anderen Fermente sind aufeinander ohne Einfluss.

Verhalten der Fermente gegen Wasserstoffsuperoxyd. Eine Consequenz der Anschauung, dass die Wirkungen der Fermente ganz eng mit denen der einfachen anorganischen Katalysatoren verwandt seien, hat auch zu der Ueberzeugung geführt, dass die allen wirksamen Fermentlösungen anhaftende Eigenschaft, Wasserstoffsuperoxyd zu zerlegen, in diesem Sinne als typische katalytische Reaction aller Fermente betrachtet wurde, und einen integrirenden Theil ihrer Wirksamkeit darstellen sollte. Dies wurde besonders von Schönbein[2]) betont; Nasse[3]) prüfte dann die Beeinflussung dieser Fähigkeit durch fremde Zusätze, wohl in der Meinung, damit die Fermentwirkung selbst auf indirectem Wege zu untersuchen.

Man erkennt diese Zerlegung des Wasserstoffsuperoxyds u. a. durch die Bläuung von alkoholischer Guajaclösung, die durch den freiwerdenden Sauerstoff eintritt. Wir werden uns mit dieser Guajacreaction noch mehrfach beschäftigen.

Jacobson[4]) ist dieser bis dahin allgemein acceptirten Anschauung durch sorgfältige Versuche zu Leibe gegangen und konnte constatiren, dass eine vollkommene Parallelität zwischen echter Fermentwirkung und Zerlegung von Wasserstoffsuperoxyd im angegebenen Sinne nicht besteht. Er konnte vielmehr auf drei Wegen eine Trennung der katalytischen Kraft von der fermentativen bewirken:

Emulsin verliert bei 72°, Pankreasinfus bei 62° völlig die katalytische Kraft, während die fermentative wenigstens theilweise erhalten bleibt.

Aehnliche Differenzen zeigten sich beim Erhitzen der trockenen Fermente auf 130, resp. 120°.

Durch Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd konnte die katalytische Kraft erschöpft werden, ohne die fermentative zu vernichten.

Als dritter Weg erwies sich das Aussalzen der Fermente mit Natriumsulfat, das gleichfalls zum Verlust der katalytischen, nicht aber der specifisch spaltenden Wirkung führte.

---

1) Wróblewski, Bednarski und Wojczinski, Hofm. Beitr. I. 289 (1901).
2) Schönbein, J. pr. Ch. 89. 334.
3) Nasse, Pflüg. Arch. XI. 159 (1875).
4) Jacobson, Z. phys. Ch. XVI. 340 (1892).

Es zeigten sich indessen noch weitere Differenzen. Während bekanntlich geringe Säuremengen die Fermentwirkung befördern, Alkalien sie hemmen, gilt für die katalytische Fähigkeit das Umgekehrte; selbst ganz geringe Salzsäuremengen verzögern und vernichten sie, während sehr schwaches Alkali sie zunächst befördert, um dann freilich bei stärkerer Concentration auch seinerseits hemmend zu wirken. Salze wirken fast durchweg verzögernd auf die Sauerstoffentbindung, doch in sehr wechselnder Intensität. Beim Pankreasferment befördert K_2SO_4 in 4%iger Lösung die Sauerstoffabspaltung, andere Sulfate wirken schwächer. Auch Natriumpyrophosphat und einige wenige andere Salze liessen eine Beschleunigung erkennen.

Am charakteristischsten ist die Wirkung der Blausäure, die sich auch aus Rhodanaten bildet und die Zersetzung von Wasserstoffsuperoxyd ganz oder zum grössten Theil aufhebt, ohne die Fermentwirkung zu tangiren. Aehnlich wirken Cyanamid, Acetonitril und Hydroxylamin.

Es scheint die Zerlegung von H_2O_2 überhaupt nicht an die eigentlichen Fermente gebunden zu sein. Es lassen sich Stoffe aus allen Gewebssäften, aus Milch (Raudnitz[1]) und Harn isoliren, die diese Function haben. Sie sind mit Alkohol und Bleiacetat ausfällbar, werden nicht durch 60°, wohl aber durch Kochen zerstört (Lépinois[2], Abelous[3]). Charakteristisch ist für sie die momentane Aufhebung ihrer Wirksamkeit durch Blausäure (s. auch im speciellen Theil bei Peroxydasen).

Es ergiebt sich daraus, dass die Zersetzung des Wasserstoffsuperoxyds nicht eine untrennbar zugeordnete Function der Fermente ist, sondern sich von ihrer fermentativen Thätigkeit scheiden lässt.

Loew[4]) nimmt zur Erklärung an, dass es zwei eigene H_2O_2 zerlegende Fermente giebt, die lösliche α-Katalase und die in Wasser unlösliche β-Katalase. Erstere soll eine Albumose, letztere ein Nucleoproteïd sein. Er fand sie besonders in Tabakblättern frei von allen anderen Fermenten und schliesst daraus auf ihre Individualität.

Die „Katalasen" wirken noch stark bei 1 : 50000. Bei 72° wird ihre Wirksamkeit aufgehoben. Schädlich sind schon schwache Säuren (0,1 %), ferner salpetrige Säure, Blausäure, Hydroxylamin, vor allem aber Sublimat. Formaldehyd stört wenig.

Sehr wichtige Analogien zwischen dieser speciellen katalytischen Wirkung der Fermente und der durch colloidales Platin in wässeriger oder schwach saurer Lösung hervorgerufenen Zerlegung des

1) Raudnitz, Z. f. Biol. 42. 91 (1901).
2) Lepinois, Soc. Biol. 51. 401 (1899).
3) Abelous, Soc. Biol. 51. 328 u. 330.
4) Loew, Bull. Departm. Agricult. Washington 1900.

Wasserstoffsuperoxyds haben Bredig und Müller von Berneck[1]) aufgefunden. Auch bei dieser wirken sehr geringe Mengen (1 gr-Atom Platin in ca. 70 Millionen Litern Wasser) sehr energisch auf sehr viel grössere Mengen Wasserstoffsuperoxyd.

Auch für den Einfluss der Temperatur auf die Geschwindigkeit der Reaction, ferner die Schwächung durch gewisse Salze etc. wurden weitgehende Analogien mit der katalytischen Kraft der Fermente nachgewiesen, worauf wir unten zurückkommen werden. Besonders frappirend ist indessen die Thatsache, dass auch der eminent schädigende Einfluss der Blausäure, sowie des Schwefelwasserstoffs und Sublimats und vieler anderer Gifte bei dem colloidalen Platin wiedergefunden wurde, indem schon durch Zusatz von Blausäure im Verhältniss von 3 : 1000000 die katalytische Kraft auf die Hälfte sank.

Nach Hoeber[2]) lässt sich der schädigende Einfluss dieser Gifte ohne Zwang auf Verkleinerung der katalytisch wirkenden Platinoberfläche durch Entstehung von Verbindungen erklären.

Bredig stellt infolge dessen die Fermente direct zu den Katalysatoren, die er überdies als „anorganische Fermente" bezeichnet. Er hat das grosse Verdienst, den Zusammenhang zwischen den anorganischen und organischen Katalysatoren ins hellste Licht gerückt zu haben, wie wir bereits in der Einleitung erwähnt haben. Wir werden indessen sehen, dass diese Parallelität auch in Bezug auf die Wirkung nicht absolut genau ist, dass sich auch im Verlauf gewisse Unterschiede zwischen Fermentprocessen und anorganischen Katalysen auffinden lassen. Vor allem aber vernachlässigt er die Specificität der Fermentaction und den Umstand, dass das Ferment an sich unbedingt etwas Organisches ist (s. oben). Ich kann deshalb den Ausdruck „anorganisches Ferment" nicht acceptiren, muss vielmehr umgekehrt die Fermente als „organische Katalysatoren" bezeichnen.[3])

1) Bredig und Müller von Berneck, Zeitschr. f. physikal. Ch. 31. 258 (1899), s. die öfter citirte umfassende Arbeit von Bredig „Anorgan. Fermente".

2) Hoeber, l. c., S. 302.

3) Oppenheimer, Münch. med. Woch. 1901. Nr. 16.

Fünftes Capitel.

Wirkungsweise der Fermente.

Wie wir bereits kurz angedeutet haben, kann man die chemischen Wirkungen der Fermente in zwei grosse Gruppen theilen, wobei an dieser Stelle die Möglichkeit der Umkehrung der Processe unberücksichtigt bleiben mag.

Die rein hydrolytischen Spaltungen vollziehen sich in der Art, dass ein complicirter gebautes Molecül unter Aufnahme der Elemente des Wassers in einfachere Spaltproducte zerfällt. Diese Spaltungen vollziehen sich ganz analog denen, die man durch Hydrolyse mittelst Säuren, resp. Alkalien erhält, und Hoppe-Seyler[1]) hat danach die hydrolytischen Fermentwirkungen eingetheilt.

Die der Säurespaltung analogen hydrolytischen Fermentationen sind folgende:

A. Der Abbau der Kohlehydrate:

1) Zerlegung der Stärke in Dextrine und Maltose durch die diastatischen Fermente.

2) Die nicht so genau erschlossene Aufspaltung anderer höherer Kohlehydrate: der Cellulose durch die Cellulase, des Inulins durch die Inulinase, des Mannans und Galactans durch die Seminase, der Pectine durch die Pectinase.

3) Die Spaltung von Maltose in zwei Molecüle d-Glucose durch die Maltase.

4) Des Rohrzuckers in ein Molecül d-Glucose und ein Molecül d-Fructose durch die Invertase.

5) Der Trehalose, der Melibiose und Lactose durch noch wenig untersuchte Fermente: Trehalase, Melibiase und Lactase.

B. Die Spaltung der Glucoside durch besondere Enzyme, wobei ein Spaltproduct d-Glucose ist.

1) Hoppe-Seyler, Pflüg. Arch. XII. 1.

C. Die Spaltung des Harnstoffs in Ammoniumcarbonat durch die Urease.

D. Der Abbau der Eiweissstoffe:

1) Durch Pepsin entstehen normalerweise hochmoleculare Körper, Albumosen und Peptone, wie sie ähnlich durch Einwirkung verdünnter Säuren auf die Proteide entstehen. Bei sehr langdauernder Einwirkung führt auch die Pepsinwirkung zu tieferer Spaltung.

2) Durch Trypsin vollzieht sich die Spaltung analog der durch concentrirte Säuren: es entstehen krystalloide, relativ einfache Körper, hauptsächlich Ammoniak, Aminosäuren und Diaminosäuren.

3) Durch das Labferment vollzieht sich eine noch nicht genau erforschte Veränderung des Caseïns zu einem coagulirten Eiweissstoff, dem Paracaseïn, ebenso auch beim Fibrinferment und der Gerinnung der Pectinstoffe durch die Pectase. Den Alkalispaltungen analoge Hydrolysen vollziehen

E. die fettspaltenden Fermente, die Glycerinester in Fettsäuren und Glycerin spalten.

F. Das Milchsäureferment, das aus Zuckern Milchsäure erzeugt.

Schwieriger zu verfolgen ist die chemische Wirkung der oxydirenden Fermente. Die Oxydasen, die den zur Oxydation ihres Substrates nöthigen Sauerstoff von aussen her entnehmen, kann man ebenfalls in 2 Gruppen sondern: und zwar gewinnen sie ihn

A. aus der atmosphärischen Luft. Dies geschieht

1) bei der Thätigkeit der echten Oxydasen, die, als Sauerstoffüberträger, z. B. Salicylaldehyd zu Salicylsäure oxydiren.

2) bei der Oxydation des Aethylalkohols durch die Essigsäuregährung.

B. durch Zersetzung von Wasserstoffsuperoxyd, dessen Sauerstoff zur Oxydation benutzt wird. Dies thun die sog. „indirecten Oxydasen".

Ganz abgesondert von allen anderen enzymatischen Processen steht das Enzym der alkoholischen Gährung, und es ist nicht angängig, diesen Process, der im Wesentlichen nach der Formel

$$C_6H_{12}O_6 = 2\,C_2H_5OH + 2\,CO_2$$

verläuft, einfach unter die Oxydationen zu subsumiren. Es handelt sich vielmehr um einen Process, der ohne Zufuhr des Sauerstoffs von aussen her erfolgt, gewissermassen eine intramoleculare Oxydation, bei der sich unter Wärmeabgabe, also exothermal ein neues Gleichgewicht in der Art herstellt, dass sich ein Theil des im

Molecül enthaltenen Kohlenstoffes auf Kosten des anderen Theiles bis zur Sättigung exydirt.

Auf diese Weise gelangen wir dann zu einem relativ einfachen Schema der Fermentwirkungen. Die Fermente wirken, wie wir in der Einleitung sahen, als Katalysatoren, d. h. sie beschleunigen Processe, die auch spontan verlaufen würden. Ostwald hat uns zwar gelehrt, welche Vorgänge katalytisch eintreten können, und den Ablauf dieser Processe zu messen, aber das innere Wesen der Katalyse ist noch dunkel. Warum wirkt der Katalysator beschleunigend? Erst eine völlige Aufklärung des Wesens der Katalyse könnte uns zu einer wirklichen Theorie der Fermente verhelfen.

So ist denn für unser Problem die Untersuchung der katalytischen Processe, die durch einfacher gebaute, anorganische Katalysatoren bewirkt werden, von der grössten Bedeutung. Bredig hat gezeigt, dass diese Vorgänge, besonders die Zerlegung von H_2O_2 durch Metallsole, eine grosse Aehnlichkeit mit dem katalytischen Zerfall durch Fermente besitzen.

Wie bei den Fermenten wird diese Reaction noch durch äusserst geringe Mengen bewirkt, nach Bredig noch durch 3.10^{-6} mg im cm^3. Schwache Alkalescenz wirkt befördernd, starke hemmend; Zusätze von Elektrolyten wirken verschieden, doch bei beiden gleichsinnig fördernd oder hemmend. Meist wirken sie hemmend, durch Ausfällung der Colloide.

Das Temperaturoptimum des Platinsols in seiner katalytischen Wirkung auf Knallgas liegt zwischen 65° und 85° (Ernst[1])). Die Wärme wirkt einerseits reactionsbeschleunigend, andererseits wird der Katalysator allmählich zerstört. Kochen vernichtet sofort.

Dieselben Gifte, die die Fermente hemmen, haben auch dieselbe Wirkung auf das Platinsol. Blausäure, die zwar nur wenige Fermente in ihrer specifischen Wirkung aufhebt, wirkt in enormer Verdünnung auf das Platin (0,0014 mg im Liter). Aehnlich verhalten sich H_2S, CS_2, CO, Hydroxylamin, Sublimat und viele andere.

Charakteristisch ist auch die Fähigkeit, sich von der Blausäure und Kohlenoxydvergiftung zu „erholen".

Aehnliche Katalysatoren sind auch andere Metallsole, ferner die Superoxyde des Mangans, Kupfers, Bleis und Kobalts, sowie das Eisenchlorid in echter Lösung.

Besonders die Eisen- und Mangankatalysatoren sind sehr wichtig, weil man auf ihre Wirkung wohl mit Recht einen beträchtlichen Theil der „Oxydasen"-Wirkung zurückführt (s. dort).

---

1) Ernst, Z. physikal. Ch. 37. 448 (1901).



Aus den angeführten Vergiftungserscheinungen wird nun der Schluss gezogen, dass in der grossen Oberflächenentwicklung die Wirksamkeit der Katalysatoren mit bedingt ist, und dass jene Gifte eben durch Verkleinerung dieser Oberfläche, entweder durch directes flockiges Ausfällen des Colloids, oder durch Bildung von chemischen Verbindungen die katalytische Kraft lähmen.[1]) Doch kann diese Oberflächenbildung nicht das einzige ursächliche Moment für die Katalyse sein; denn andere Colloide, wie z. B. Gelatine, Kieselsäure etc., wirken nicht katalytisch. Es müssen vielmehr noch ganz bestimmte Beziehungen zwischen Katalysator und Substrat herrschen, die nicht blos durch die directe Wirkung der grossen Oberfläche (Verminderung der Oberflächenspannung und dadurch bedingte grössere Concentration an der Oberfläche) ausgedrückt werden können.

Beim Palladium scheint eine Anhäufung von freien Wasserstoffatomen das für die Katalyse Wirksame zu sein.

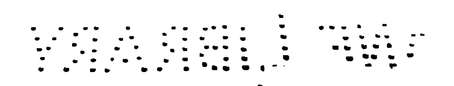
In anderen Fällen scheint die Auflösung des Substrates im Katalysator die schnellere Wirkung zu bedingen, so in dem „künstlichen Ferment“ von Bredig:

Triäthylamin wirkt auf Methylacetat in Benzollösung bei 25^0 äusserst langsam, schneller aber bei Zusatz von Wasser, das Benzol emulgirt. Methylacetat und Triäthylamin vertheilen sich im Wasser, das hier die Rolle des Katalysators spielt. Hoeber hält es für möglich, dass eine derartige Lösung in specifischen Lösungsmitteln die Specifität der Fermentwirkungen restlos erklären könne.

Andere Katalysen lassen sich darauf zurückführen, dass der Katalysator selbst in den Process eintritt, dass Zwischenreactionen auftreten, so wahrscheinlich bei der Entstehung von Aether aus Alkohol und Schwefelsäure, wobei Aethylschwefelsäure als Zwischenproduct entstehen würde. Dann haben wir es mit einem „Pseudokatalysator“ zu thun (Wagner[2])). Solche Pseudokatalyse fand Brode[3]) in der Beschleunigung der Reaction zwischen H_2O_2 und HJ durch Molybdänsäure, wobei wahrscheinlich Permolybdänsäure als Zwischenproduct entsteht. Diese Processe könnten besonders für die oxydativen Vorgänge im Organismus, für die Oxydasen eine grosse Bedeutung haben, wobei die Eisensalze als Pseudokatalysatoren fungiren würden. Auch Wasserstoffübertragung und damit Reductionen im thierischen Organismus durch Reducasen wären denkbar (Hoeber l. c.).

Für eine directe Antheilnahme des Katalysators bei den Fermenten

1) Näheres darüber s. b. Hoeber, l. c. S. 300 ff.
2) Wagner, Z. f. physikal. Ch. 28. 533 (1899).
3) Brode, Z. f. physikal. Ch. 37. 257 (1901).



spricht auch die Bedeutung der Fermentmenge für den Umsatz, worauf wir unten eingehen werden.

Von besonderer Bedeutung für die Theorie der Fermente ist jedoch die Ansicht von Euler[1]), dass jede Katalyse in der Vermehrung der in die Reaction eintretenden Jonen besteht.

Dann bedeutet die Concentrirung auf die Oberfläche eine Vermehrung der activen Jonen. Im Palladium werden, wie oben erwähnt, freie Atome Wasserstoff gebunden; es wäre möglich, dass sie in Jonen übergehen.

Besonders einleuchtend wäre dann der häufige katalytische Einfluss geringer Wassermengen, das eine sehr grosse dissociirende Kraft hat. Die katalytische Wirkung nimmt in manchen Fällen mit der Dielektricitätsconstante des Lösungsmittels zu, die wiederum die Jonenbildung bestimmt.

So scheint denn Vieles für die Euler'sche Hypothese zu sprechen, sicher erwiesen ist sie indessen noch nicht.

In Bezug auf Fermentprocesse sei in diesem Zusammenhang auf eine Thatsache hingewiesen, die mit der Dissociationsfrage im Zusammenhang steht.

Nasse[2]) ging ebenfalls von der Idee aus, dass ein Ferment im Momente seiner specifischen Wirksamkeit active freie Ionen besitzen müsse, die durch ihre kinetische Energie den Process einleiten sollen.

Er untersuchte demzufolge die Leitfähigkeit an Gemischen von frischem Ferment und Wasser und gekochtem Ferment und Wasser und fand keine grössere Leitfähigkeit des „rohen" Ferments. Wenn er dagegen das Wasser — das auch durch die Lösung eines nicht specifischen Substrates, z. B. Rohrzucker bei Diastase vertreten werden kann — durch eine Lösung des dem Fermente specifischen Substrates, z. B. Stärke bei Diastase ersetzte, so zeigte das rohe Ferment eine grössere Leitfähigkeit gegenüber dem durch Kochen vernichteten. Es scheint hier also thatsächlich eine Dissociation des Ferments im Stadium der specifischen Wirksamkeit einzutreten. Leider sind diese höchst wichtigen Versuche niemals nachgeprüft und erweitert worden.

Das Wesen der Katalyse bedarf also noch der weiteren Aufklärung.

Die Fermentwirkungen verlaufen zum Theil sehr ähnlich den einfachen Säurespaltungen, doch lassen sich auch bei den hydrolytischen

---

1) Euler, Z. f. physikal. Ch. 36. 641 (1901).
2) Nasse, Maly's Jb. 1894. 718.

Fermentationen bei exacter Untersuchung gewisse Unterschiede im Verlauf nachweisen.

Die Unterschiede zeigen sich in der quantitativen Begrenzung der Processe, in der Geschwindigkeit, mit der sie verlaufen, und der Beeinflussung, welche die Menge des Fermentes, die erzeugten Spaltproducte und andere physikalische Verhältnisse, namentlich der Concentrationsgrad und die Temperatur auf ihre Wirkung auszuüben (Tamman[1]).

Der wichtigste Unterschied ist folgender:

Die hydrolytische Wirkung der Fermente ist im Gegensatz zu den durch Wasser, besonders beim Erwärmen unter Druck (Munk[2]) oder verdünnte Säuren erfolgenden Spaltungen specifisch. Dieser Umstand ist ausschlaggebend für die gesonderte Betrachtung der Fermentprocesse.

Die Fermentprocesse streben einem gewissen Endzustande zu, einem Gleichgewichtszustande zwischen ursprünglichem Substrat und Spaltungsproducten. Je nachdem der Process ein mehr oder minder reversibler ist, wird sich bei ganz normalem Reactionsverlauf der Gleichgewichtszustand mehr oder minder nahe der völligen Zerspaltung des ursprünglichen Substrates einstellen. Einige Fermentprocesse scheinen praktisch völlig irreversibel zu verlaufen, so dass es zu einer anscheinend restlosen Umformung des Substrates kommt, so z. B. die Labgerinnung und die Emulsinspaltung des Amygdalins. Bei anderen mehr reversiblen Processen kommt es dagegen zur Herstellung eines richtigen Gleichgewichtszustandes, so dass die Spaltung nicht restlos verläuft, vielmehr stets eine rückläufige Wiederherstellung des Substrates eintritt; unter Umständen kann sich unter der Wirkung des Fermentes auch vom anderen Ende her der Gleichgewichtszustand einstellen, so dass synthetische Processe auftreten.

Dies beweisen die Befunde von Hill[3]), der constatirte, dass Glucose unter dem Einfluss von Maltase zum Theil in Maltose zurückverwandelt wird, und zwar in concentrirteren Lösungen, während bei Concentrationen unter 4 Proc. diese Reversion des Processes nicht eintritt. Gleich concentrirte Lösungen von Glucose und Maltose stellen sich unter der Einwirkung von Maltase bei demselben Gleichgewichtszustand von Glucose und Maltose ein. Die Umkehrung des Processes ist von Emmerling[4]) bestätigt worden, der allerdings, was hier gleichgiltig ist, die Bildung von Isomaltose annimmt.

1) Tamman, Z. phys. Ch. XVI. 271 (1892).
2) Munk, Z. phys. Ch. I. 357 (1877).
3) Hill, Journ. of the chem. soc. 73. 634 (1898).
4) Emmerling, Chem. Ber. 34. 600 (1901).

Pomeranz[1]) hat aus den Hill'schen Zahlen für die Umwandlung von Glucose in Maltose die Gleichgewichtsconstanten berechnet. Die Constante ist von der Temperatur unabhängig, da die Wärmetönung der Umwandlung fast gleich Null ist.

Analoge Umkehrungen unter der Wirkung von Enzymen sind seitdem häufiger gefunden worden.

Kastle und Loevenhart[2]) gelang es, durch Pankreasextracte die partielle Synthese von Aethylbutyrat zu erzielen.

Cremer[3]) giebt an, dass Buchner's Zymase aus Zucker Glycogen aufbaut.

Emmerling[4]) konnte zwar nicht aus Benzaldehyd, Blausäure und Glucose durch Emulsin das Amygdalin regeneriren, wohl aber gelang ihm diese Synthese, wenn er vom Mandelnitrilglucosid ausging, das aus Amygdalin durch Maltasewirkung entsteht. Dieses weniger tief gespaltene Product geht durch Maltase wieder in Amygdalin über.

Abelous und Ribaut[5]) geben an, dass Nierenextracte aus Benzylalkohol und Glycocoll Hippursäure bilden. Dabei soll die zuerst erfolgende Oxydation des Benzylalkohols zu Benzoësäure die zur Synthese nöthige Energie liefern.

Vor kurzem haben dann E. Fischer und Armstrong[6]) die Reversibilität der Lactasewirkung festgestellt. Sie erhielten aus Galactose und Glucose in gleichen Mengen durch Kefirlactase eine Isolactose. Auch aus Traubenzucker allein bildet Lactase ein Disacharid.

Indessen stellen sich diese Gleichgewichtszustände nur dann ein, wenn der Katalysator unter ganz normalen Bedingungen steht.

Diese werden aber häufig durch schädliche Einflüsse auf das Ferment gestört. Sobald nämlich durch eine Schädigung der Katalysator ausgeschaltet wird, stellt sich ein scheinbarer Gleichgewichtszustand her; denn nun verläuft die weitere Reaction so langsam, wie sie ohne die Gegenwart des Fermentes verlaufen wäre, d. h. häufig unmessbar langsam.

Diese Schädigung kann irreparabel sein; dann ist der Process bei diesem scheinbaren Gleichgewicht für die Beobachtung wirklich zum Stillstand gekommen.

Dies bewirkt eine Zerstörung des Fermentes durch starke Fermentgifte, wie Säuren etc.

---

1) Pomeranz, Monatsh. f. Chem. 23. 270 (1902).
2) Kastle und Loevenhart, Amer. chem. Journ. 24. 491 (1900).
3) Cremer, Chem. Ber. 32. 2062 (1899).
4) Emmerling, Chem. Ber. 34. 3810 (1901).
5) Abelous und Ribaut, Soc. Biol. 52 (1900).
6) E. Fischer und Armstrong, Chem. Ber. 35. 3144 (1902).

Aehnlich wirkt Erhöhung der Temperatur. Zwar wirkt die Erhöhung reactionsbeschleunigend, doch tritt gleichzeitig eine wachsende Schwächung des Fermentes ein; sobald diese überwiegt, nimmt die Geschwindigkeit der Spaltung ab; und es kann zum völligen Stillstand kommen. Da die Beschleunigung der Reaction sowohl wie die Zerstörung des Fermentes durch Erwärmen nicht nur von der Natur des Fermentes, sondern auch von vielen äusseren Bedingungen abhängt, so hat jedes Fermentgemisch seine Optimaltemperatur, bei der die Reactionsbeschleunigung am meisten die Zerstörung überwiegt. Oberhalb derselben ist die Zerstörung grösser als die Beschleunigung: die Reactionsgeschwindigkeit nimmt ab.

Nach Tamman ist es gleichgiltig, ob dieses Temperaturoptimum schnell oder langsam erreicht wird, der schliessliche Zustand ist derselbe. Bei Temperaturen, die das Optimum überschreiten, wird eine langsamere Erwärmung natürlich mehr Ferment zerstören, als eine schnelle.

Ist das Ferment zerstört, bevor der Process sein eigentliches Gleichgewichtsstadium erreicht hat, so kann man ihn durch Zusatz neuer Fermentmengen wieder weitergehen lassen.

Eine weitere Schädigung des Fermentprocesses wird mitunter bedingt durch die Spaltungsproducte.

Wenn diese für das Ferment schädlich sind, so stellt ihre Anhäufung ebenfalls ein Moment dar, das den Process vorzeitig zum scheinbaren Stillstand kommen lässt. Indessen tritt hier keine irreparable Zerstörung des Fermentes ein, sondern nur eine Inactivirung (Tamman).

Es stellt sich dabei auch ein „falsches Gleichgewicht“ her: in Wirklichkeit ist der Process garnicht zum Stillstand gekommen; da aber der Katalysator ausser Thätigkeit gesetzt ist, geht der Process nur mit der ihm ohne Katalysator eigenen Geschwindigkeit, also eventuell unmessbar langsam weiter.

Durch Entfernung der schädlichen Producte (durch Ausäthern von Saligenin z. B. oder durch Neutralisirung entstehender Säuren), oder auch durch einfache Verdünnung ist der Process wieder in Gang zu bringen, das Ferment zu „reactiviren“.

Dasselbe erreicht man natürlich durch Zusatz neuen Fermentes, aber auch merkwürdigerweise durch Zusatz eines anderen Substrates. Wenn man einem stillstehenden Amygdalin-Emulsingemisch nunmehr Salicin zusetzt, wird dieses allmählich zersetzt.

Diese typischen Abweichungen von der einfachen Hydrolyse sind also ziemlich leicht zu erklären, um so mehr, als bei anorganischen Katalysen ähnliche scheinbare Ausnahmen vorkommen (s. o.).

Es bestehen indessen noch unerklärte Differenzen, so zwischen der Rohrzuckerspaltung durch Säuren und durch Invertase (Henri), auf die wir unten zurückkommen werden.

Bedeutung der Fermentmenge für den Spaltungsprocess. Die Menge des Substrates, das ein Ferment im Verhältniss zu seiner eigenen Quantität verwandeln kann, ist eine sehr bedeutende. Ein Theil sicherlich noch nicht reinen Labferments kann mindestens 400000 Theile Caseïn umsetzen (Hammarsten), Invertase 100000mal so viel Rohrzucker (O'Sullivan und Tompson) und andere Enzyme können ähnliche colossale Mengen bewältigen; ihre Fähigkeit ist indessen doch endlich begrenzt. Sowohl die Menge des im Endzustande gespaltenen Substrates, als auch die Zeitdauer der Reaction sind abhängig von der zugeführten Menge des Ferments. Jedoch nur bis zu einem gewissen Grade. Ist die Relation zwischen Ferment und Substrat erreicht, bei der das Maximum der Wirkung eintritt, so sind neue zugesetzte Fermentmengen ohne Einfluss. Auch dies gilt natürlich nur für Temperaturen, bei denen keine Zerstörung des Ferments eintritt.

Ausser der Fermentmenge spielen bei der Ausbildung der Endzustände auch noch der Verdünnungsgrad, jedoch in manchen Fällen, z. B. beim Salicin nicht, und die vorhandene Menge des Substrats eine bedeutende Rolle, ferner, wie wir ja schon besprochen haben, die Temperatur und fremde Beimischungen, wie Salze etc. Das Maximum des Endzustandes wird also durch alle diese Factoren bedingt. Tamman hat es versucht, die sich durchkreuzenden Einflüsse zu untersuchen, und stellt als wahrscheinliche Formel für die Emulsin-Salicinlösung auf, dass „bei zunehmender Fermentmenge, constant bleibender Salicinmenge die Menge des gespaltenen Salicins bei der Temperatur des Maximums in arithmetischer Reihe wächst, wenn die des Emulsins in geometrischer Reihe zunimmt".[1]) Bei Temperaturen unterhalb des Maximums werden überschüssige Fermentmengen gleichgiltig; bei solchen, die über dem Maximum liegen, wächst die Salicinspaltungsmenge noch, aber schwächer als in der angegebenen Regel, mit der zunehmenden Menge, während natürlich die Gesammtspaltung geringer wird und oberhalb der Zerstörungstemperatur aufhört. Das Maximum liegt bei geringen Fermentmengen schon bei 30°, steigt dann aber bis 46°. Aus der Form der von Tamman entworfenen Curve kann man Rückschlüsse auf die tieferen Temperaturen (unter 0°) machen, die auf eine ähnliche „Tötungstemperatur" in der Tiefe deuten (nach Tamman für Salicinemulsin — 65°).

1) Tamman, l. c. S. 306.

So weit die Resultate von Tamman! Auffällig sind dabei die merkwürdig geringfügigen quantitativen Wirkungen des Emulsins. Er giebt an, dass 0,01 mg Emulsin mit 0,25 g Amygdalin vermischt so wenig spaltet, dass keine Blausäure, sondern nur der Geruch von Benzaldehyd nachweisbar ist. Andere Fermente scheinen doch weit energischer zu wirken. Das muss darauf hindeuten, dass man die Tamman'schen Schlüsse vorläufig eben nur für das Emulsin gelten lassen darf.

Indessen ist auch vielfach von anderer Seite gezeigt worden, dass die Fermentmenge nur ein Factor ist, dass aber die Quantität der Spaltproducte noch durch viele andere Bedingungen beeinflusst wird. Die Bestrebungen also, aus der Menge der Spaltproducte auf die „Menge des Enzyms" Rückschlüsse zu machen und „Formeln" dafür zu geben, als handelte es sich um analytisch festgelegte Werthe, sind nur von relativem Wert. Es kann mitunter eine sehr viel grössere Fermentmenge viel weniger Spaltproducte liefern (s. z. B. Maszewski[1])). Vergleichende Messungen der Fermentmengen kann man also nur bei sonst gleichen Bedingungen anstellen.

Dann lassen sich constante Beziehungen zwischen Fermentconcentration und Reactionsgeschwindigkeit aufdecken (s. u.).

Geschwindigkeit der Fermentreaction. Die Geschwindigkeit der Fermentreactionen wird ebenso wie das Endstadium beeinflusst durch die Menge des Ferments und des Substrats sowie die Temperatur; ferner auch durch die Gegenwart fremder Stoffe.

Den Einfluss der Fermentmenge auf die Reactionsgeschwindigkeit haben u. A. für das Pepsin Brücke, für die Speicheldiastase Cohnheim, für Malzdiastase Schwarzer, für Invertase Barth, für Emulsin Markwort und Hüfner, für das Lab Mayer etc. untersucht. Alle diese Befunde geben das Resultat, dass die Zeit der Reaction abnimmt mit steigender Fermentmenge, jedoch nicht ihr direct umgekehrt proportional ist. Dies gilt nur für das Labferment. Fuld[2]) hat nachgewiesen, dass dieses „Zeitgesetz der Labung" von Segelcke und Storch herrührt, und hat es selbst auch für ganz kurze und ganz lange Einwirkung des Ferments bestätigt (s. b. Lab). Für das Pepsin (Schütz[3])) und das Fibrinferment (Fuld[4])) gelten andere, complicirtere Zeitgesetze. Nach der Schütz'schen Regel ist die Reactions-

1) Maszewski: Z. phys. Ch. 31. 58 (1900).
2) Fuld, Hofmeister's Beitr. II. 169 (1902).
3) E. Schütz, Z. phys. Ch. IX. 577 (1887). J. Schütz, Z. phys. Ch. 30. 1 (1900). Huppert und Schütz, Pflüg. Arch. 80. 470 (1900).
4) Fuld, Hofm. Beitr. II. 514 (1902).

geschwindigkeit beim Pepsin proportional der Quadratwurzel aus den Fermentmengen $\left[\frac{k_1}{k_2} = \left(\frac{c_1}{c_2}\right)^{1/2}\right]$. Dieselbe Formel gilt nach Pawlow[1]) und Vernon[2]) auch für Trypsin, Diastase und Lipase, auch die des Magens (Stade[3])). Hoeber (l. c.) weist darauf hin, dass hier vielleicht die Dissociation des Pepsins in je 2 wirksame Theile diesem mathematischen Ergebniss entsprechen könnte, da auch bei der Knallgaskatalyse durch Palladium die Wurzel aus dem Wasserstoffdruck, d. h. die Concentration der H-Atome die Geschwindigkeit bedingt. Medwedew[4]) fand für die Oxydasen ein nicht allgemein giltiges Gesetz $\frac{k_1}{k_2} = \left(\frac{c_1}{c_2}\right)^2$.

Ueber die Einwirkung fremder Stoffe auf die Geschwindigkeit und Intensität der Fermentreactionen sind zahlreiche Untersuchungen angestellt worden (s. o.). Eine Vereinheitlichung der Befunde ist jedoch bei den widersprechenden Angaben unmöglich. Für einen Unterschied gegen die einfach hydrolytischen Processe spricht der Umstand, dass es Stoffe, z. B. Neutralsalze giebt, die Fermentreactionen befördern, dass dagegen alle Säurespaltungen von allen Zusätzen in der Geschwindigkeit beeinträchtigt werden (Nasse[5])).

Einen bisher nicht völlig erklärten, gewichtigen Unterschied zwischen den hydrolytischen Säurespaltungen und den fermentativen bedingt der Umstand, dass nach den Untersuchungen von Tamman und besonders von Henri[6]) die Enzymwirkungen nicht der logarithmischen Curve der Säurespaltung folgen. Dies gilt vor Allem von der Invertase. Bei letzterer ist die Geschwindigkeit der Reaction nicht der Säurespaltung analog, sondern die Constante ist derart abhängig von der Concentration, dass aus concentrirten Lösungen relativ wenig, aus verdünnten viel gespalten wird, so dass es bei ungenauer Beobachtung den Eindruck macht, als ob die absolute Menge des in der Zeiteinheit zersetzten Rohrzuckers, unabhängig von der Concentration, stets die gleiche wäre. Aehnlich verhält sich Diastase bei der Stärke (Brown und Glendinning[7])).

Nach Henri wäre in dem Fall, dass die Invertasewirkung nach

---

1) Pawlow, Die Arbeit der Verdauungsdrüsen. Wiesbaden 1898.
2) Vernon, Journ. of physiol. 26. 422 (1901).
3) Stade, Hofmeisters Beitr. III. 291 (1903).
4) Medwedew, Pflüg. Arch. 65. 249 (1897).
5) Nasse, Pflüg. Arch. XI. 147.
6) Henri, Z. physikal. Ch. 39. 194 (1902).
7) Brown und Glendinning, Proc. Chem. Soc. XVIII. 43 (1902).

der logarithmischen Curve angesetzt würde, also nach der Formel

$$\frac{dx}{dt} = k\,(a - x)$$

(a die Anfangsconcentration des Rohrzuckers), k, die Geschwindigkeitsconstante, in Wahrheit nicht constant, sondern würde dauernd wachsen (s. a. b. Invertase).

In seiner letzten Arbeit hat Henri[1]) gezeigt, dass ausser Invertase auch Diastase und Emulsin nicht der logarithmischen Curve folgen. Invertase wirkt schneller, Emulsin langsamer. Die Geschwindigkeit der Inversion von Rohrzucker wächst nur bei niederen Concentrationen (bis 0,1 normal) mit der Concentration des Rohrzuckers, ist dann aber von ihr unabhängig.

Wenn er nun annimmt, dass ein Theil des ganzen Enzyms (Φ), den er z nennt, sich mit dem Substrat gebunden hat, ein anderer (y) mit den Spaltproducten, und der freie Rest des Fermentes X genannt wird, so gelten nach dem Massengesetz folgende Gleichungen ausser der selbstverständlichen Gleichung

$$\Phi = X + y + z:$$

$$(a - x)\,X = \frac{1}{m}\,z; \quad x\,X = \frac{1}{n}\,y,$$

wobei x die Menge des gespaltenen Substrates darstellt.

Nun sind nach Henri zwei Annahmen möglich: entweder wirkt nur der freie Fermentantheil X, oder aber es wirkt der an das Substrat gebundene Antheil z.

Für beide Fälle ergiebt sich die Gleichung

$$\frac{dx}{dt} = \frac{k\Phi\,(a - x)}{1 + m\,(a - x) + nx}.$$

Dabei sind k die Geschwindigkeitsconstante, m und n Constanten, die von der Art des Fermentes, der Temperatur etc. abhängen. Die Concentration des Substrates und die Spaltproducte sind danach im Verlaufe der Spaltung auf k ohne Einfluss und k constant, was experimentell bestätigt wurde.

Diese Ableitung spricht also auch für die Annahme, dass der enzymatischen Spaltung eine präliminare Bindung des Ferments an das Substrat vorhergeht.

Wir müssen aus allen diesen Beobachtungen also den Schluss ziehen, dass eine restlose Zurückführung der Fermentprocesse auf einfache Katalysen bisher nicht gelungen ist. Es sprechen besonders die zuletzt erwähnten Henri'schen Formeln dafür, dass dem katalytischen Zerfall erst eine specifische Bindung vorhergehen muss, so dass

1) Henri, C. R. 135. 916 (1902).

nur ein Theil des Fermentprocesses, als Ganzes betrachtet, ein katalytischer genannt werden kann, nämlich die zweite Phase, der Zerfall des Substrates.

Für eine specielle Natur der Fermentprocesse, gegen die Identicirung mit einfachen Katalysen spricht vor Allem aber ihre Specificität.

Specificität der Fermentprocesse. Während man durch verdünnte Säuren unter annähernd denselben Bedingungen Stärke, Cellulose, Eiweisskörper, Glucoside etc. spalten kann, entfalten die Fermente unter denselben äusseren Bedingungen eine streng specifische Wirkung. Die stärkezerlegende Diastase ist ohne jede Einwirkung nicht nur auf Eiweisskörper, auf Amygdalin und Salicin (Cohnheim[1]), Nasse[2])), sondern sogar auf die viel näher verwandten Disacharide, Maltose und Rohrzucker, ja wahrscheinlich auch auf die der Stärke so nahe stehende Cellulose. Ganz analog sind die proteolytischen Fermente ohne jede Einwirkung auf Kohlehydrate und Fette etc. etc.

Und nicht nur die primär angegriffenen Stoffe sind nach der Natur der Fermente verschieden, sondern in einfacher Consequenz daraus auch die Ausdehnung des Processes. Weil eben Achroodextrin und Maltose gegen Diastase unempfindlich sind, bleibt der diastatische Abbau der Stärke bei diesen Spaltproducten stehen, während Stärke durch Säuren unter geeigneten Bedingungen direct in d-Glucose gespalten werden kann.

Wir stehen hier also vor dem Problem, wieso gerade nur das eine specifische Ferment in der Lage ist, katalytisch auf das specifische Substrat zu wirken.

Den ersten Lichtschimmer in dieses Dunkel werfen die genialen Versuche von Emil Fischer[3]), der zum ersten Mal systematisch die stereochemische Betrachtungsweise auf die Fermentwirkung angewendet hat. Dass freilich die lebende Zelle sehr wohl im Stande ist, sterische Differenzen im Aufbau des Moleculs zu respectiren, zeigten schon die Versuche von Pasteur[4]), dass Pilze nur die rechtsdrehende Weinsäure verzehren können, und die ebenfalls längst erkannte Thatsache, dass auch die Gährfähigkeit der Zucker durch Hefe abhängt von ihrer sterischen Configuration. Es gähren zunächst überhaupt nur die Zucker mit sechs und neun Kohlenstoffatomen, von diesen wieder

1) Cohnheim, Virch. Arch. 28. 241.
2) Nasse, l. c. S. 157.
3) E. Fischer, s. bes. Z. phys. Ch. **26**. 71 (1898).
4) Pasteur, C. R. **51**. 298 (1860).

nur die in ihrem genetischen Zusammenhang zur „d"-Reihe gehörigen[1]), und auch diese nur zum Theil, trotzdem sie völlig structuridentisch sind; aber sterisch sind sie verschieden, und das genügt, um sie der Gährwirkung der Hefe zum Theil unzugänglich zu machen.

E. Fischer übertrug dann diese Art der Betrachtung auf die Enzyme. Er stellte künstlich sterisch verschiedene, structuridentische Derivate der Zucker, z. B. Methylglucoside, Aether der Zucker mit Methylalkohol, dar. An diesen fand er nun zwei wichtige Gesetze:

Zunächst einmal wirkten die von ihm untersuchten Enzyme, die des Hefeninfuses und das Emulsin überhaupt nur auf die künstlichen Glucoside der gährfähigen Zucker, so dass hier schon die wesentliche Bedeutung der sterischen Configuration ins hellste Licht gerückt wird.

Zweitens aber erhielt er aus den gährfähigen Zuckern auch zwei stereoisomere Reihen von Glucosiden, die er als α- und β-Glucoside bezeichnet, und nun erwies sich die wundersame Thatsache, dass die Glucoside der α-Reihe nur von den Enzymen des Hefeninfuses, die der β-Reihe nur vom Emulsin angegriffen werden, womit also die specifische Wirkung der Enzyme auf die Spitze getrieben erscheint. Wir werden im speciellen Theil, bei der Besprechung der glucosidspaltenden Enzyme, genauer auf diese Thatsachen eingehen. Und doch liegt gleichzeitig in den Resultaten Fischer's andererseits auch eine Beschränkung der Specifität der enzymatischen Wirkung. Dass die Enzyme nicht in dem Sinne specifisch zu wirken brauchen, dass sie ihre Thätigkeit nun gerade ganz ausschliesslich auf einen chemischen Stoff richten, liegt ja klar auf der Hand, wenn wir bedenken, dass die proteolytischen Enzyme fast alle Eiweisssubstanzen, die doch sicherlich verschieden sind, angreifen, dass die Diastase alle Stärkearten, Glycogen, und einen Theil der Dextrine, dass das Emulsin zahlreiche Glucoside spaltet.

Und so nimmt denn Fischer auch mit vollem Recht an, dass die Enzyme, welche die künstlich hergestellten Glucoside spalten, identisch sind mit den längst bekannten, welche einerseits Rohrzucker und Maltose, andererseits das Amygdalin und andere Glucoside spalten. Es wäre eine gar zu unwahrscheinliche Voraussetzung, dass für die in der Natur nie vorkommenden künstlichen Glucoside im Hefeninfus resp. im Emulsin ganz specifische, ausschliesslich an sie adaptirte Enzyme vorkommen sollten.

1) Die wirkliche Drehung ist dabei irrelevant; die linksdrehende Fructose, die systematisch zur „d"-Reihe gehört, gährt ebenfalls.

In späteren Arbeiten hat E. Fischer[1]) noch zahlreiche andere Zuckerderivate auf die Spaltung durch Fermente hin untersucht. Die Osone verhalten sich ganz analog den Zuckern selbst: Maltoson wird durch Hefenenzyme, Melibioson von beiden Enzymen gespalten. Emulsin spaltet auch die drei synthetisch hergestellten Disacharide: Glucosidogalactose, Galactosidoglucose und Galactosidogalactose, ebenso ihre Osone, Unterhefe nur die beiden ersten. Die synthetische Isolactose wird nur von Lactase, nicht von Emulsin angegriffen. Dass auch andere, einfache Zuckerderivate unter Umständen gespalten werden, zeigen Versuche von Acree und Hinkins[2]), dass Diastase die Triacetylglucose in Glucose und Essigsäure spaltet. Die Reaction scheint reversibel zu sein.

So werden wir denn allmählich dazu hingeführt, dass es ganz bestimmte sterische Atomgruppirungen sind, die den Fermenten als Angelpunkt ihres Eingreifens dienen können; dass Fermente auch wohl in der Lage sein können, mehrere Körper verschiedener Structur zu spalten, wenn sie nur eben diese ihnen passende Atomgruppe vorfinden, mag sonst die Structur sein, wie sie will.

Und wenn wir diesen Gedanken weiter verfolgen, so drängt sich mit unwiderstehlichem Reiz die Analogie mit den Toxinen der Bacterien und den mit ihnen verwandten pflanzlichen und thierischen Toxinen (Ricin, Schlangengift etc.) auf.

Die Analogien in der Natur und in der Wirkung der Fermente und der Toxine sind unverkennbar und häufig hervorgehoben, von Roux und Yersin schon vor längerer Zeit, und jetzt besonders für das Tetanustoxin.

Beide sind hochmoleculare Stoffe von unbekannter Natur: scheinbar eiweissähnlich, aber zum Theil ihre albuminoide Natur um so mehr abstreifend, je reiner man sie darstellen lernt.[3])

Beide sind ausserordentlich empfindlich gegen Licht, Luft, Säuren und viele andere chemische Agentien; beide werden in ihrer Wirksamkeit durch Aufkochen unwiederbringlich zerstört.

Beide sind Producte lebender Zellen. Nehmen wir noch dazu, dass beide in so unendlich kleinen Mengen ihre Wirksamkeit entfalten[4]), dass man eben ihre Wirkung nicht als eine rein chemische, eine Massenwirkung auffassen darf, so sehen wir in der That der Analogien genug.

---

1) E. Fischer u. Armstrong, Chem. Ber. 35. 3141, 3144 (1902).

2) Acree und Hinkins, Amer. Chem. Journ. 28. 370 (1902).

3) Genaueres über die Toxine siehe bei Oppenheimer, Die Bacteriengifte in Wassermann-Kolle, Handbuch d. pathogenen Mikroorganismen. Bd. I (Jena 1902).

4) Nach Brieger und Cohn ist die tötliche Dosis Tetanustoxin bei einem durchaus nicht reinen Gift 0,00023 g für einen Menschen! [Z. f. Hyg. XV. 1 (1893)].

Es ist also ausserordentlich verlockend, auch einen Versuch der Erklärung der Fermentwirkung auf dem Wege zu machen, den Ehrlich[1]) für die Toxine mit so grossem Erfolge gegangen ist.

Ehrlich's Anschauung über die Toxinwirkung ist auch eine stereochemische. Nach seiner Seitenkettentheorie ist die Möglichkeit einer Toxinwirkung ebenfalls daran geknüpft, dass die „haptophore" Gruppe des Toxins in dem Protoplasma der Zelle eine dazu passende „haptophore" Gruppe („Receptor") finden muss, an die sie sich und damit das Gesammtmolecül des Toxins heftet. Dann erst ist das Toxin befähigt, seine toxophore Gruppe ihre schädlichen Wirkungen auf die Zelle ausüben zu lassen. Fehlt die entsprechende haptophore Gruppe, so ist das Toxin der Zelle gegenüber machtlos; das erklärt die Specifität der Toxinwirkung.

Ganz analog wie Emil Fischer in seinem berühmt gewordenen Bilde von dem Schlüssel „Ferment", der zu dem Schlosse „Substrat" passen muss, stellt sich also Ehrlich die Bindung des Toxins an das Zellprotoplasma vor.

Könnten wir uns vorstellen, dass in einer irgendwie ähnlichen Weise die Fermente haptophore Gruppen besässen, die eben jenen sterisch bedingten haptophoren Gruppen des Substrates angepasst sind und sich an sie heften; könnten wir uns weiter vorstellen, dass den toxophoren Atomcomplexen, die den physiologischen Zerfall, den Tod der Zelle verursachen, eine „zymophore" Gruppe des Fermentmoleculs entspräche, die den chemischen Zerfall des Molecularcomplexes bewirkt, so hätten wir ein plastisches Bild, wie die specifische Wirkung der Fermente zu Stande käme. Ebenso, wie die toxophore Gruppe an sich durchaus nicht specifisch zu sein braucht, sondern eine ganz einfache physiologische Wirksamkeit durch chemische Affinität als Erklärung zulässt, so brauchte auch die die Spaltung auslösende zymophore Gruppe nichts Specifisches mehr zu besitzen, sondern vergleichbar katalytischen Substanzen wirken, also z. B. der einfachen Säurespaltung.

Sobald das Ferment durch die specifische haptophore Gruppe sich an das Substrat geheftet hat, ist das Specifische der Wirkung erreicht, die einfache katalytische Wirkung beginnt. Und gerade wie bei einfachen krystalloiden Protoplasmagiften der physiologische Zerfall nicht an specifische sterische Configurationen, an haptophore Gruppen gebunden ist, so wirken auch die einfachen Säuren bei der Hydro-

1) Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus. Berlin 1885. Ferner Klin. Jahrb. VI. und „Schlussbetrachtungen", Nothnagel's Handbuch, Wien 1901; s. dazu auch Oppenheimer, Biolog. Centralbl. 1899. S. 799 u. l. c.

lyse nicht specifisch, sondern wahllos auf alle spaltbaren Substanzen.

Man sieht, wie ausserordentlich verlockend es ist, auf diesem Wege fortzuschreiten; doch dürfen wir dabei nicht ausser Acht lassen, dass bei aller scheinbaren Uebereinstimmung die Schwierigkeit der Durchführung einer derartigen Theorie der Fermente eine ganz gewaltige ist. Wir müssten den ungeheuren Schritt wagen, von dem Protoplasma der Zelle rückwärts zu schliessen auf die Configuration so einfacher Stoffe, wie es der Rohrzucker und das Amygdalin sind, um dort ähnliche haptophore Atomcomplexe anzunehmen, wir müssten von der physiologischen Wirkung der toxophoren Gruppen den Schluss ziehen auf die chemische Wirkung der zymophoren Gruppe —; kurz, nur als tastender Versuch, als Befriedigung des Causalitäts- und Analogiebedürfnisses des Verstandes ist eine solche Theorie, bisher wenigstens, aufzufassen.

Doch giebt es bereits eine Reihe von Thatsachen, die im Sinne einer solchen Anschauung verwerthbar sind, abgesehen von den vielen Beziehungen in der Natur der Toxine und Fermente, die wir oben herangezogen haben.

Zunächst hat man schon frühzeitig eine wirkliche Bindung des Fermentes an sein Substrat vor seiner Wirkung beobachtet. Besonders frisches Fibrin hat die Fähigkeit, relativ grosse Mengen von Pepsin, Papayotin und Trypsin, jedoch auch von Diastase u. a., so fest zu binden, dass sie durch Auswaschen nicht entfernt werden können.[1]) Aehnliches hat man bei anderen Fermenten beobachtet. Dies könnte man als eine Absättigung der beiderseitigen haptophoren Gruppen betrachten.

Dafür spricht auch die für fast alle Enzyme constatirte Thatsache, dass die Tötungstemperatur für wässerige Lösungen niedriger liegt, als für die Gemische von Ferment und Substrat, so dass die etwa entstandene „Verbindung" beider beständiger zu sein scheint.

Will man fernerhin die Wirkung der zymophoren Gruppen auf eine einfache Säurewirkung zurückführen, so könnte man dafür andererseits die thatsächlich gefundene Bindung von schwacher Salzsäure an das Ferment ins Feld führen (s. b. Pepsin).

Hanriot[2]) nimmt für die Lipase ebenfalls eine lockere Bindung, und zwar an die Fettsäuren an.

Die zuerst befremdende und scheinbar nicht in diesen Erklärungsversuch passende Thatsache, dass sich die Fermente mitunter auch an

---

1) Litteratur bei Szumowski, Arch. d. phys. 1898. 160.
2) Hanriot, Soc. Biol. 53. 67 (1901).

Stoffe binden, die sie nicht angreifen (z. B. Pepsin an Seide), könnte man im Rahmen dieser Vorstellung so deuten, dass zwar passende haptophore, nicht aber wirksame zymophore Gruppen vorhanden sind, so dass trotz präliminarer Bindung eine Einwirkung nicht erfolgt.

Dem ganz entsprechend ist die Thatsache, dass sich auch die an sich unwirksamen Profermente (Zymogene) an ihr Substrat binden können, wie Glaessner beim Propepsin (s. d.) fand. Ein entsprechender Fall bei den Toxinen ist der Tetanus des Frosches, wo trotz zweifelloser Bindung des Toxins an die Nervenzellen in der Kälte die toxophore Gruppe nicht wirkt (Morgenroth[1])).

Viel mehr ins Gewicht fallend sind die Schlüsse, die sich aus den Erscheinungen der Bacteriolyse und der Hämolyse ziehen lassen (s. im speciellen Theil).

Hier handelt es sich wohl auch um Fermentwirkungen. Ein in den Organismus eingedrungener protoplasmatischer Schädling, ein Bacterium oder ein fremdes Blutkörperchen, wird durch die proteolytischen Fermente des Blutes zerstört. Um nun aber die an sich zu schwachen proteolytischen Fähigkeiten des Blutes zu steigern, entsteht durch den Reiz dieses Schädlings ein ganz specifisch auf ihn eingestelltes Ferment, das seine haptophore Gruppe in die des Fremdlings hineinklammert und mit seiner zymophoren Gruppe ihn vernichtet. Es bildet sich dabei ein specifisch bindender Körper mit zwei haptophoren Gruppen („Amboceptor"): eine bindet das Substrat, die andere das proteolytische Ferment, das „Complement", das, an sich unspecifisch, nur durch Vermittlung des Zwischenkörpers wirkt. Es ist dabei principiell gleichgiltig, ob das Complement ein ganz typisches Verdauungsferment ist. Es zeigt jedenfalls alle Eigenschaften eines Fermentes.

Für diesen einen ganz speciellen Fall hätten wir also thatsächlich das Bild, wie es eine Theorie der Fermentwirkung im oben entwickelten Sinne geben würde: zwei aufeinander eingepasste haptophore Gruppen („Schloss und Schlüssel") und die schliesslich wirksame zymophore Gruppe. Aber dieser Fall lässt sich eben leider nicht ohne Weiteres verallgemeinern.

Nur einen einzigen Fall, wo auch bei einem typischen Fermentprocess eine „Completirung" nothwendig ist, haben wir zu verzeichnen.

Reines Pankreassecret ist nämlich an sich auf Eiweisssubstanzen unwirksam, erst durch Completirung mit der „Enterokinase" des Darmsaftes oder ähnlichen „Kinasen" wird es zum wirkamen Trypsin (Näheres s. bei Trypsin). Diese Er-

1. Morgenroth. Arch. internat. d. Pharmacodyn. VII. 265 (1900).

scheinung ist noch zu wenig aufgeklärt, um sie theoretisch verwerthen zu können, vor Allem ist es fraglich, ob die „Kinase" mehr dem Amboceptor oder dem Complement analog zu setzen ist.

Eine andere gewichtige Thatsache ist neuerdings bekannt geworden, welche die Analogien zwischen Toxinen und Fermenten von einer neuen Seite beleuchtet. Eine Consequenz der Ehrlich'schen Seitenkettentheorie war die Annahme der Bildung specifischer Antikörper aus überschüssig producirten haptophoren Gruppen, die, im Blute kreisend, eindringende Toxine an ihren haptophoren Gruppen ergreifen und unschädlich machen[1]); das Serum, das solche Antikörper enthält, ist dann im Stande, im Reagensglas Toxine zu neutralisiren. Genau dasselbe ist nun Morgenroth[2]) beim Labferment gelungen. Auf dieselbe Weise, wie man den Organismus zur Bildung von Antitoxinen reizt, nämlich durch steigende Zufuhr von Toxinen, konnte er durch steigende Dosen von Labferment es bewirken, dass sich im Serum und der Milch der Versuchsthiere ein „Antilab" vorfand, das im Stande war, die Wirkung des Labfermentes auf Milch bis zu einem sehr hohen Grade zu paralysiren (vgl. bei Labferment).

Aehnliche „Antifermente" sind auch gegen Pepsin, Trypsin, Fibrinferment, Tyrosinase, Laccase, Urease aufgefunden worden, auf die wir im speciellen Theil eingehen werden. Andererseits sind wahrscheinlich auch die hämolytischen Wirkungen der Toxine echte Fermentwirkungen. Alle diese Stoffe geben aber Antikörper und stehen den Toxinen sehr nahe.

Für diese Fälle haben wir also ebenfalls eine völlige Analogie mit den Toxinen. Ein Stoff, versehen mit einer haptophoren Gruppe, gebildet aus überschüssigen Seitenketten, zieht das Ferment durch dessen haptophore Gruppe an sich und verhindert es derart, seine zymophore Gruppe auf das Substrat wirken zu lassen.

Für den Nachweis der haptophoren Gruppe neben der zymophoren sind neue Versuche von Korschun[3]) wichtig, der im Chamberland-Filtrat von Labferment die Labwirkung selbst viel erheblicher geschwächt fand, als die Bindung von Antilab des normalen Pferdeserums. Dies deutet auf die Existenz von noch bindenden, aber nicht mehr wirksamen, den Toxoiden analogen „Fermentoiden" hin, die nur noch die haptophore, nicht mehr die zymophore Gruppe besitzen.

Die Kette zwischen Fermenten und Toxinen schliesst sich mehr und mehr.

---

1) s. Oppenheimer, l. c.
2) Morgenroth, Cbl. f. Bact. 26. 349 (1899).
3) Korschun, Z. phys. Chem. 37. 377 (1903).

Gehen wir von den Fermenten aus, deren Wirksamkeit am schwierigsten auf Grund der Seitenkettentheorie erklärt werden kann, zu denen, deren Antikörper wir kennen, die aber noch spalten, zu denen, die nicht sicher oder sicher nicht spalten, und weiter zu den mehr und mehr den Toxinen nahestehenden Stoffen, zu denen, die bereits, wahrscheinlich an differenten ergophoren Gruppen, sowohl fermentative als toxische Wirkung besitzen, so erhalten wir im Groben folgende Reihe:

Invertase etc. Emulsin etc. Diastase etc.	reine Fermentwirkung, keine Antikörper bekannt.
Urease Proteolytische Fermente Fibrinferment Lab	Antikörper bekannt.

Präcipitine und Agglutinine, Complemente (Fermentwirkung zweifelhaft).
Hämolysine einfacher Natur (Fermentwirkung und Toxin).

Pflanzliche Toxine Thierische Toxine Bakterientoxine	(Fermentwirkung, wenn überhaupt vorhanden, stark zurücktretend).

Wenn man also nach alledem, unter Berücksichtigung aller in den gegebenen Einzelheiten entschieden zur Geltung gebrachten schwerwiegenden Vorbehalten, als Thema probandum für die weitere Untersuchung das Facit, eine Theorie der Fermentwirkungen betreffend, ziehen will, so darf man wohl sagen:[1])

Die Fermentwirkung vollzieht sich in zwei Phasen:

Die erste ist die Bindung zwischen Ferment und Substrat mit Hilfe specifisch bindender Gruppen. Für diese Bindung ist wahrscheinlich die sterische Configuration massgebend.

Die zweite Phase ist ein Zerfall des Substrates, der sich im Wesentlichen nach der Gesetzen der Katalyse vollzieht.

1) Die soeben erschienene Arbeit von Henri: „Lois générales de l'action des diastases"; Paris, A. Hermann 1903, konnte ich leider im „Allg. Theil" nicht mehr berücksichtigen. Soweit neue Befunde in Frage kommen, werden sie im speciellen Theil, besonders bei Diastase und Invertase besprochen werden.

Sechstes Capitel.

Physiologische Wirksamkeit der Fermente.

Dass die Enzyme bei ihrer grossen Activität auch für die lebenden Organismen nicht gleichgiltig sein würden, war eigentlich vorauszusehen.

Béchamps und Baltus[1]) fanden, dass subcutane Injectionen von pflanzlicher und Pankreasdiastase giftig wirkten.

Bergmann und Angerer[2]) wiesen nach, dass Pankreatin und Pepsin bei der subcutanen Injection ihrer Lösungen die Temperatur steigern und sehr giftig sind. Aehnliches fand Roussy[3]) bei einem aus verdorbenem Biere gewonnenen Stoff mit invertirenden Eigenschaften, dem er den sehr überflüssigen Namen „Pyrétogenin“ gab.

Mendelson[4]) fand bei Hunden Fiebererregung durch Pepsin, wobei der Blutdruck beträchtlich gesteigert wurde.

Hildebrandt[5]) hat dann die physiologische Wirksamkeit von Pepsin, Labferment, Invertase, Diastase, Emulsin und Myrosin genauer untersucht.

Alle wirkten toxisch. Die einfach letale Dosis für ein mittelgrosses Kaninchen betrug für Pepsin, Invertase und Diastase ca. 0,1 g, für Emulsin und Myrosin 0,05 g, ja selbst 0,025 g (erst nach $1\frac{1}{2}$ Wochen). Labferment war weit weniger giftig: die letale Dosis war 2 g.

Alle zeigten ferner bei Injection von Lösungen in steriler 0,6 proc. Kochsalzlösung fiebererregende Wirkung, bis ca. 41°, schneller bei intravenöser, als bei subcutaner Injection. Anfangs war die Wärmeproduction allein gesteigert, dann auch die Wärmeabgabe, die beim Abklingen des Fiebers sich gegenüber der Production relativ stark ver-

1) Béchamps und Baltus, C. R. 90. 373. 539 (1880).

2) Bergmann und Angerer, Festschr. zum 500j. Best. d. Univ. Würzburg. 1882. 137.

3) Roussy, Dtsch. med. Woch. 1889. 874.

4) Mendelson, Virch. Arch. 100. 291 (1885).

5) Hildebrandt, Virch. Arch. 121. 1 (1890).

mehrte. Hildebrandt kommt bei näherer Untersuchnng zu dem Schluss, dass es sich bei diesen Erscheinungen um echte Fiebererscheinungen (Fermentfieber) handelt, wie ja auch Antipyretica (Kairin) sich wirksam erwiesen.

Die Symptome der Vergiftung waren Fressunlust, Durst, Zittern, Unruhe, taumelnder Gang, schliesslich Coma (bei Hunden). Bei Kaninchen waren hauptsächlich Abmagerung, Schwäche, manchmal Streckkrämpfe zu beobachten.

Bei der Section fanden sich zahlreiche Hämorrhagien in inneren Organen, fettige Degenerationen des Herzens und der Leber, Stauungsniere, Thrombosen.

Labferment wirkte nur sehr schwach, wohl weil ihm die Körpertemperatur von ca. 40⁰ schon schädlich ist (Mayer[1])). Auch bei der Invertase gelang es Hildebrandt, die Thiere durch künstliche Ueberhitzung theilweise zu schützen, so dass er geneigt ist, die Wärmeerhöhung im Fieber überhaupt als eine heilsame Reaction gegen das Ferment zu betrachten.

Die Fermente erwiesen sich als Blutgifte, indem sie den rothen Blutkörperchen den Farbstoff entzogen und ihn reducirten. Während die Fermente intra vitam Blutgerinnungen veranlassten, bestätigte Hildebrandt die Angaben von Albertoni[2]) und Salvioli[3]), dass sie, zu Blut ausserhalb des Körpers zugesetzt, gerinnungshemmend wirken. Es gerann aber auf Zusatz von Fibrinferment.

Die fiebererregende Wirkung und die sich anschliessenden Vergiftungserscheinungen nach Injection von Fermenten wollte Fermi[4]) auf gleichzeitige Miteinführung von pathogenen Mikroben zurückführen. In der That hatte Hildebrandt es versäumt, den bindenden Nachweis zu führen, dass seine Mittel zur Sterilisirung wirklich diesen Erfolg erzielt hatten. Dies that indessen an seiner Stelle Kionka[5]), der mit nachgewiesen sterilen Fermenten (durch Sublimat und Thonfilter) Hildebrandt's Resultate bestätigte und zeigte, dass die von Fermi (l. c.) angewendeten Methoden zur Sterilisirung der Fermente auch die enzymatische Wirksamkeit so geschwächt hatten, dass sie nicht mehr toxisch wirkten.

Indessen hält Fermi[6]) seine abweichende Anschauung völlig aufrecht, so dass eine Einigung über diese Frage bislang nicht erzielt ist.

1) A. Mayer, Enzymologie. Heidelberg 1882.
2) Albertoni, C. med. Wiss. 1878. No. 36.
3) Salvioli, C. med. Wiss. 1885. 913.
4) Fermi, Arch. f. Hyg. XII. 238; XVI. 385 (1894).
5) Kionka, Deutsch. med. Woch. 1895. 612.
6) [illegible] 1895. 828.

Jedoch ist es sehr wahrscheinlich, dass den Fermenten wirklich Eigenschaften zukommen, die auch manchen Bacterientoxinen eigen sind. Hildebrandt[1]) konnte in einer späteren Arbeit nachweisen, dass die Fermente chemotactisch wirken, d. h. Leukocyten heranziehen und so auch local, z. B. an der Injectionsstelle Entzündungen hervorrufen.

Er untersuchte ferner die Eingangspforten für eine Fermentintoxication. Im Magen wurden sie zerstört und zwar durch das Pepsin, dagegen erwiesen sich Klystiere und Einträufelungen in den Conjunctivalsack als wirksam.

Die Fermente zeigten sich im Stande, ein frisch herausgenommenes Froschherz zum Stillstand zu bringen und erwiesen sich im Allgemeinen als echte Protoplasmagifte.

Achalme[2]) fand Trypsin giftig, ebenso Papayotin. Es bewirkt locale Oedeme und Necrosen, Ungerinnbarkeit des Blutes, Selbstverdauung des Magens, vasomotorische Störungen.

Es gelang Hildebrandt ferner, eine gewisse Giftfestigkeit der Versuchsthiere speciell gegen Emulsin zu erzielen, und zwar eine Giftfestigkeit, die einer echten Immunisirung insofern ähnlich war, als die Thiere nicht nur grössere Dosen Emulsin anstandslos vertrugen, sondern dass auch die specifische Wirksamkeit der Fermente im Organismus zum mindesten stark herabgesetzt erschien.

Dass man neuerdings thatsächlich durch Immunisirung „Antifermente" erzielt hat, haben wir oben erwähnt.

Zu diesen Fermentimmunisirungen seien auch die Versuche erwähnt, durch Einführung von Diastase gegen das sacharificirende Ferment, dessen übermässige Thätigkeit mit zur Entstehung des Diabetes beitragen soll, zu immunisiren. Kussmaul[3]) will bei diesen Versuchen bei intravenöser Einspritzung von Diastase Verminderung der Zuckerausscheidung gesehen haben, desgl. Lépine[4]).

Schicksale der Fermente im Organismus. Die normalen Fermente des Organismus werden während ihrer Thätigkeit im Darm zum Theil resorbirt und gehen in geringen Mengen in den Harn über. Ein anderer Theil wird mit dem Kothe ausgeschieden. Indessen vertreten Gehrig[5]) und Schnappauf[6]) den Standpunkt, dass das fertige wirksame Pepsin nicht oder wenig in den Kreislauf gelange, dass es

---

1) Hildebrandt, Virch. Arch. 131. 5 (1893).
2) Achalme, Ann. Pasteur XV. 737 (1901).
3) Kussmaul, Arch. f. klin. Med. XIV (1874).
4) Lépine u. Barral, C. R. 113. 1014 (1891).
5) Gehrig, Pflüg. Arch. 38. S. 35 (1886).
6) Schnappauf, Beitr. z. Physiol. des Pepsins. Diss. Rostock 1888.

vielmehr direct aus der Drüse als Zymogen resorbirt würde. Ausserdem wird ein grosser Theil nicht ausgeschieden, also entweder im Organismus irgendwo zerstört oder in die secernirenden Drüsen zurückgeführt.

Man fand im Harn mit Sicherheit Pepsin, Diastase und Labferment; das Vorkommen von Trypsin unter normalen Bedingungen ist zweifelhaft.

Ein grosser Theil der Fermente wird indessen schon im Verdauungskanal zum mindesten unwirksam gemacht; ob sie indessen zerstört werden, lässt sich mit voller Sicherheit nicht angeben.

Durch die Arbeiten von Langley[1]) ist nachgewiesen, dass die Speicheldiastase zwar noch eine gewisse Zeit im Magen wirksam bleibt schliesslich aber völlig unwirksam wird. Das Pepsin und Lab des Magensaftes wird durch den alkalischen Darmsaft inactiv gemacht oder zerstört; es ist dies eine physiologische Nothwendigkeit, da sonst das Pepsin die Trypsinwirkung in hohem Maasse beeinträchtigen würde; Kühne schreibt auch den Gallensäuren eine wichtige Function bei der Unschädlichmachung des Pepsins zu und erklärt die Verdauungsstörungen bei Abschluss der Gallenwege gegen den Darm (Icterus etc., oder Fisteln) zum Theil durch Ausfall dieser Function.

Das Trypsin und die übrigen Darmfermente endlich sollen nach Langley durch die bei der Darmfäulniss entstehenden Säuren zerstört werden.

Indessen muss der Organismus auch Mittel haben, um die Fermente, die ihm auf ungewohntem Wege zugeführt werden, zu verarbeiten. Inwieweit sie zerstört werden, inwieweit andererseits sie nur inactivirt oder etwa ihrer physiologischen Function wieder zugeführt werden, lässt sich nicht übersehen.

Béchamps und Baltus[2]) machten nämlich die Beobachtung, dass intravenös injicirte Diastase nur zum Theil in den Harn übergeht.

Schnappauf[3]) konnte eine Vermehrung der normalen Pepsinmenge im Harn durch subcutane Injection von Pepsin nicht constatiren.

Hildebrandt[4]) konnte nachweisen, dass subcutan eingespritztes Emulsin überhaupt nicht durch den Harn ausgeschieden wird. Der Organismus zerstört also dieses ihm fremde Ferment vollkommen, aber langsam, gerade wie die Bacterientoxine von natürlich immunen Thieren äusserst langsam zerstört werden, z. B. Te-

1) Langley, Journ. of Physiol. III. 246.
2) Béchamps und Baltus, C. R. 90. 373. 539. (1880).
3) Schnappauf, Beitr. z. Physiol. d. Pepsins. Diss. Rostock 1888.
4) Hildebrandt, Virch. Arch. 131. S. 12 (1893).

tanusgift beim Huhn [vgl. Oppenheimer, Bacteriengifte (l. c.)]. Dadurch, dass zugeführtes Amygdalin Blausäurevergiftung erzeugt, solange Emulsin im Körper vorhanden ist, konnte Hildebrandt zeigen, dass noch 6 Stunden nach der Injection genügend wirksame Fermentmengen vorhanden waren, um eine Vergiftung des Versuchskaninchens zu erzielen. Er konnte ferner zeigen, dass das Ferment ins Blut übergeht, dort aber schneller vernichtet wird. Es fand sich dann aber noch in Milz, Pankreas und besonders Leber wirksames Ferment, sowie besonders im Bindegewebe und den regionären Lymphdrüsen der Injectionsstelle. Das Ferment der parenchymatösen Organe wirkte nicht auf im Blute kreisendes Amygdalin, scheint also an die Zellen gebunden zu sein, was zur Erklärung der oben besprochenen Giftwirkungen der Fermente von grossem Interesse ist. Die in vitro constatirte hindernde Wirkung des Blutserums auf Fermente konnte Hildebrandt für das Labferment auch im lebenden Thier feststellen.

Aus alledem ergiebt sich, dass die Fermente unter allen Umständen zum grossen Theil im Organismus vernichtet werden.

Siebentes Capitel.

Secretion der Enzyme.

Wenn wir auch aus den oben entwickelten Gründen die rein biologische Auffassung der Fermentprocesse durchaus ablehnen müssen, so ist doch die praktische Bedeutung dieser Vorgänge für biologische Probleme so eminent, dass wir ihr ausführlicher gerecht werden müssen.

Wir fassen die Fermente auf als echte Secretionsproducte des lebenden Protoplasmas, die indessen zum Theil dadurch von gewöhnlichen Secreten sich unterscheiden, dass sie in mehr oder minder festem Zusammenhang mit der sie erzeugenden Zelle bleiben, dass also, wenn ich mich eines in nichts vorgreifenden Ausdruckes bedienen darf, ihre zymophore Gruppe noch mit dem Kern des Protoplasmamolecüls in Verbindung steht. Diesen Zusammenhang kann man nun bislang entweder gar nicht trennen; diese Fermente bilden also gewissermassen den Rest der „geformten" Fermente im alten Sinne, zu denen sich auch die, wie es scheint, ungemein wichtigen intracellulären Fermente gesellen, die im Stoffwechsel sicherlich eine grosse Rolle spielen.[1]) Sie sind aber doch zum Theil durch Vernichtung der Zelle isolirbar, indem man die Zellen mit Quarzsand zerreisst, oder vergiftet, und durch hohe Drucke die Enzyme auspresst. Sie bilden den Uebergang zu den Fermenten, die man gewinnen kann, wenn man den Zusammenhalt durch zwar weniger energische Eingriffe, die aber doch die Zelle als lebendes Individuum vernichten oder schwächen, zerreisst: die so gewonnene Gruppe von Enzymen steht dann in der Mitte zwischen den „geformten" und „ungeformten" Fermenten; sie kommen zum Theil auch unter anderen Bedingungen als frei secernirte Fermente vor.

Wir haben also ausser den wenigen noch garnicht isolirten Fermenten zwei Hauptgruppen zu unterscheiden: die gebundenen, aber gewaltsam isolirbaren und die einfach secernirten Fermente.

1) Genaueres s. bei Jacoby, Ueb. d. Bed. d. intracell. Fermente. Asher-Spiro, Ergebnisse I, 213 (1902).

Die erste Gruppe, die Endoenzyme, besteht:

A. aus den Enzymen der Hefen:
Invertase, Maltase, Lactase etc.;

B. aus dem harnstoffspaltenden Enzym, der Urease;

C. aus denjenigen thierischen Fermenten, die intra vitam, wie es scheint, nicht frei secernirt werden, nach dem Tode aber aus den frischen Geweben darstellbar sind; dazu gehören bei höheren Thieren die autolytischen Fermente, Cohnheim's Erepsin etc. Bei niederen Thieren kommen sie ebenfalls vor, so soll nach Mesnil[1]) die lebende Aktinie gar keine Enzyme produciren, während aus ihren Geweben verschiedene, z. B. proteolytische, labende, fettspaltende Fermente darstellbar sind. Diese Fermente scheinen von sehr grosser Bedeutung zu sein, da sie in einem noch nicht sicher festgestellten Zusammenhang mit den Leukocyten stehen.

D. aus der Zymase Buchner's, einigen proteolytischen Enzymen, die auf demselben Wege gewonnen sind, sowie den Enzymen der Milchsäure- und Essiggährung.

Die übrigen Enzyme (die zweite Gruppe), werden ohne Schwierigkeit in die umgebenden Medien abgegeben, sind also in Wasser- und Glycerinextracten etc. nachzuweisen.

Für die intracellulären Endoenzyme nimmt man neuerdings (Hofmeister, Jacoby) eine räumliche Vertheilung in der Zelle an, in der Art, dass sie in Vacuolen, durch colloidale Scheidewände von einander getrennt, einzeln wirksam sein können. Eine Secretion dieser Enzyme nach aussen findet nicht statt. Dagegen gehen andere Endofermente unter gewissen Bedingungen aus der Zelle heraus, und ihre Secretionsbedingungen sind eifrig untersucht worden. Es handelte sich hier darum, das Verhältniss der Zellvitalität zur enzymatischen Wirkung festzustellen. Besonders wichtig ist für diese Frage das Studium der Enzyme der Hefe geworden. Die lebende gesunde Hefezelle giebt an ein wässeriges Infus im Wesentlichen nur ein Ferment, die Hefediastase, in geringer Menge ab. Wird die Hefe dagegen durch chemische oder physikalische Mittel getötet oder geschwächt, so ändert sich das Bild ganz wesentlich.

Die Mittel, die man zu diesem Zwecke anwendet, sind folgende: Entweder schwächt man die Lebensenergie der Hefe dadurch, dass man sie lufttrocken werden lässt, bei einer Temperatur, die ca. 30° nicht übersteigt. Ist sie trocken, so kann man die Schwächung durch kurzdauerndes Erhitzen auf 100° noch verstärken.

---

1) Mesnil, Ann. Past. XV. 352 (1901).

Ein anderes Mittel ist die Anwendung von Protoplasmagiften, die die eigentliche Gährfähigkeit ausschalten, ohne dass die Enzyme dadurch geschädigt werden; namentlich Toluol, Chloroform, Aether, Salicylsäure, Thymol werden dazu verwendet.

Die so präparirten Hefen verhalten sich dann folgendermassen

Die gewöhnlichen Hefen, die Rohrzucker und Stärke vergähren können, geben dann ausser der stärkespaltenden Diastase noch zwei weitere Enzyme ab, die den Rohrzucker spaltende Invertase und die den Malzzucker spaltende Maltase, ferner meist die noch wenig untersuchte Trehalase.

Einigen Hefen fehlt eins oder das andere Enzym; so enthält Sacharomyces Marxianus nur Invertase, Sacharomyces octosporus nur Maltase, Sacharomyces apiculatus keins von beiden etc. Die untergährigen Hefen weisen noch ein besonderes (?) Ferment. die Melibiase auf.

Die Milchzuckerhefen geben unter denselben Bedingungen an Stelle der Maltase ein Milchzucker spaltendes Enzym, die Lactase ab; doch geht diese in Wasserextracte nur in sehr geringer Menge über.

Es wird überhaupt mehrfach beobachtet, dass die vergifteten Hefen zwar die Enzymwirkung erkennen lassen, dass aber die Enzyme nicht in das Infus eingehen, solange die Zellwand unverletzt ist. Es ist also bisher nicht mit Sicherheit zu entscheiden, ob diese Enzyme an das Protoplasma irgendwie gebunden oder einfach durch die intacte Zellwand retinirt sind.

Besonders interessant gestaltet sich der Fall der Monilia candida. Diese Pilzhefe enthält ein Rohrzucker invertirendes Ferment, da sie im Stande ist, diesen zu vergähren. Diese Invertase der Monilia ist indessen auf keine Weise aus den Zellen zu isoliren. Dass aber auch hier ein vom Lebensprocess unabhängiges Ferment obwaltet, ist daran zu erkennen, dass die Hefe auch dann noch Rohrzucker invertirt, wenn ihre Gährfähigkeit durch Toluol etc. aufgehoben wird. Wir müssen also entweder mit Fischer[1]) annehmen, dass die Moniliainvertase in Wasser unlöslich ist, oder dass die Zellwände dieser Hefe so widerstandsfähig sind, dass sie auch nach dem Trocknen und Erhitzen noch für das Enzym undurchlässig sind. Für die Moniliainvertase gilt also das im weitesten Sinne, was für die Lactase oben angedeutet wurde, die ja auch nur in geringer Menge in Infuse übergeht.

Diese Bindung der Invertase und Maltase an die Zelle findet

---

1) E. Fischer, Z. phys. Ch. 26. 77. 1898. Die übrige Litteratur s. im speciellen Theil bei den einzelnen Fermenten.

sich indessen nur bei den entsprechenden Enzymen der Hefe und einiger anderer Pilze. Sie kommen anderweitig auch frei secernirt vor, besonders in thierischen Säften, wie wir dies von der Pankreasmaltase, Darminvertase etc. wissen.

Ein anderes Enzym, das aus den gesunden Zellen nicht herausgeht, ist die ammoniakbildende Urease einiger Bacterien; aus den lebenden Culturen ist sie nicht zu isoliren, wohl aber nach Vergiftung der Mikroben durch Alkohol.

Die thierischen Endoenzyme lassen sich durch Verreiben der frischen Organe mit Glaspulver oder Quarzsand und Extrahiren gewinnen.

Finden wir bei den eben besprochenen Enzymen einen ziemlich lockeren Zusammenhang mit dem Zellleib, so dass es relativ leicht gelingt, sie von der Lebensthätigkeit der Mutterzelle getrennt zu beobachten, so spottete dagegen das alkoholisirende Ferment der Hefe aller Versuche, es zu isoliren. Durch Anwendung ganz gewaltiger Einwirkungen, besonders hoher Drucke, gelang es dann endlich E. Buchner, aus der Hefe das Enzym der Alkoholgährung, die Zymase zu isoliren, die also gewissermassen zwischen den Hefenenzymen der vorher besprochenen Art und den überhaupt noch nicht isolirten Fermenten einen Uebergang bildet. Auch aus anderen pflanzlichen und auch thierischen Geweben lässt sich nach dem Buchnerschen Verfahren ein alcoholbildendes Enzym, der Zymase analog, gewinnen, wie soeben Stoklasa und Czerny[1]) gezeigt haben. (Näh. s. b. alcoh. Gährung). Ganz ähnlich verhalten sich andere Endoenzyme proteolytischer Natur, die man aus Hefe und aus Bacterienleibern isoliren konnte (Hahn und Geret). In jüngster Zeit ist es nun E. Buchner und Meisenheimer[2]) gelungen, die Enzyme der Milchsäure- und Essiggährung in ganz analoger Weise aus den specifischen Bakterien zu isoliren, womit eigentlich die „geformten“ Fermente bis auf geringe Reste verschwunden sind.

Bei all' diesen Fermenten ist eine directe Beobachtung des Secretionsvorganges und der mit ihm einhergehenden Veränderungen der Mutterzelle natürlich unmöglich, da eine Secretion ja erst nach einer so erheblichen Schädigung des Protoplasmas erfolgt, dass an ihm Veränderungen in histologischem Sinne nicht mehr nachgewiesen werden können.

Um so eifriger hat man sich mit den Veränderungen der Zellen beschäftigt, die einfach lösliche Fermente secerniren.

---

1) Stoklasa und Czerny, Chem. Ber. 36. 622 (1903).

2) E. Buchner und Meisenheimer, Chem. Ber. 36. 634. (1903).

Die Enzyme der Thiere werden zum grossen Theil in besonderen Organen gebildet und ausgeschieden, die man als **Drüsen** bezeichnet. Es sind dies namentlich die sacharificirende Fermente bildenden **Mundspeicheldrüsen**, ferner die Pepsin und Lab absondernden Drüsen des **Magens** und die **Bauchspeicheldrüse**, die drei Fermentgruppen, nämlich **Trypsin**, **sacharificirende Fermente** und **Lipase** absondert; hierzu kommen als nicht weniger bedeutsam noch die **Darmschleimhaut**, deren wichtigstes Product **Invertase** neben **Diastase** ist, die **Leber** etc. Bei einigen niederen Thieren sind die Functionen mehrerer Drüsen vereinigt in der **Mitteldarmdrüse**, die ausser proteolytischen, sacharificirenden und fettspaltenden Enzymen bisweilen auch **Cellulose lösende Enzyme** abgiebt.

Die histologischen Veränderungen, welche diese Drüsen bei der Secretion der Enzyme erleiden, sowie die Beziehungen der Drüsenzellen zu den Enzymen überhaupt sind insbesondere durch die Arbeiten von **Kölliker**, **Rollet**, **Heidenhain**, **v. Wittich**, **Grützner**, **Langley**, **Biedermann**[1]) u. v. A. in genauester Weise untersucht und bis in die feinsten histologischen Details festgestellt worden. Es erscheint unmöglich, das Ergebniss dieser Arbeiten in kurzen Worten zu resumiren, und sie in feineren Einzelheiten hier aufzurollen, würde über den Rahmen dieser Schrift weit hinausgehen.

Nur so viel sei hier erwähnt, dass die secernirenden Zellen während des **Ruhestadiums** relativ gross sind, wenig Protoplasma enthalten, dafür aber angefüllt sind mit Stoffen theils mehr homogener, theils auch granulirter Structur, die man als die Fermente oder vielmehr die Materialien zur Bildung der Fermente betrachtet. Tritt nun der die Secretion bewirkende Reiz ein, so werden diese metaplasmatischen Substanzen ausgeschieden, die Zelle verkleinert sich, ihr Protoplasma nimmt an Mächtigkeit zu, um bei wieder eintretendem Ruhezustand neue Fermentmengen zu erzeugen, die vorerst in inactiver Form, als sogenannte **Zymogene** in den Zellen abgelagert werden.

War so bei den Thieren durch die Existenz besonderer drüsiger Apparate die histologische Problemstellung weit präciser, so verhielt [illegible] für die **Pflanzenenzyme** etwas anders. Man fand frühzeitig [illegible] Pflanzen weit verbreitet allerlei **Enzyme**, aber über ihre Lo[illegible] den einzelnen Pflanzentheilen und Geweben konnte man [illegible]igen.

[illegible] neuerer Zeit beginnen sich gewichtige Stimmen von [illegible] zu machen, welche auch bei den Pflanzen besondere [illegible] oder mindestens secretorische Zellgruppen an-

[illegible] Literatur verweise ich wiederum auf den speciellen Theil.

nehmen und ihre Ansicht histologisch begründen. Ich will hier nur auf die im speciellen Theil näher zu besprechenden Untersuchungen von Tangl, Haberlandt, Brown und Morris, Grüss über die Diastase, von Marshall Ward über die Cellulase, von Guignard über das Emulsin und Myrosin, Gardiner über die proteolytischen Fermente von Dionaea hinweisen, die alle bestimmt localisirte Zellgruppen, deren secretorische Thätigkeit sich mikroskopisch verfolgen lässt, für die Enzymproduction verantwortlich machen.

Die Zymogene (Profermente). Je intensiver man sich mit der Frage nach der Secretion der löslichen Fermente beschäftigt, desto mehr gewinnt es den Anschein, als ob innerhalb der lebenden Zelle und unmittelbar nach dem Secretionsvorgang die Fermente sich allgemein nicht in wirksamem, activem Zustande befinden, sondern in einem Vorstadium, das man als Proferment oder Zymogen bezeichnet. Vom Pepsin und Trypsin nimmt man dies schon seit langem an, und besonders Langley und Heidenhain haben diese Anschauung begründet, indessen scheint diese Erscheinung für einen sehr grossen Theil aller Enzyme, auch die der Pflanzen zu gelten, worauf besonders Green hingewiesen hat.

Diese Zymogene sind an sich unwirksam, sie gehen aber bei Berührung mit bestimmten „zymoplastischen“ Substanzen, besonders verdünnten Säuren, in die activen Fermente über.

Die Zymogene sind meist gegen äussere Einflüsse resistenter als die Fermente selbst, ihnen sonst aber sehr ähnlich.

Häufig kann man diese Zymogene directer Beobachtung innerhalb der Zelle zugänglich machen; sie stellen Granula von bestimmter Anordnung und Färbbarkeit dar, die unter dem Mikroskop sichtbar sind. Dies gilt besonders für die Zymogene des Pepsins und Trypsins in den entsprechenden Drüsenzellen; doch auch andere Beobachtungen sprechen dafür, wie z. B. die Befunde von Haberlandt bei der Diastase des Samenendosperms und Wards bei der Cellulase der von ihm untersuchten Botrytisarten.

Was diese Activirung für ein Process ist, darüber kann man nur Vermuthungen aufstellen; dass gerade verdünnte Säuren die besten zymoplastischen Substanzen sind, weist darauf hin, dass es hier sich wohl um Spaltungen von höheren Complexen, vielleicht aus Verbindungen von Fermenten mit Eiweisssubstanzen bestehend, handeln könne.

Für einen Ausbau der Lehre von den Fermenten als Haptine könnte man andererseits diese „Activirung“ als einen Vorgang ansehen, der etwa der Completirung von Amboceptoren entspräche, wie man dies bei den Plasmatolysinen annimmt. Das zymoplastische Agens entspräche dann

dem Complement. Jedoch ist das bisher reine Speculatiou, für die thatsächliche Gründe nicht zu geben sind.

Andererseits scheint es allerdings, als ob es auch andere Mechanismen der Fermentactivirung giebt, wie die einfache Wirkung verdünnter Säuren. So wird das an sich unwirksame Trypsin im Darm activirt durch ein anscheinend specifisches Agens, die Enterokinase, die noch manche Räthsel darbietet. Hier könnte man ebenfalls an ein specifisch sich an den Amboceptor bindendes Complement denken (Näheres s. b. Trypsin).

Achtes Capitel.

Wichtigkeit der Fermente für den Lebensprocess.

Wenn wir auch in der biologischen Werthschätzung der Fermente nicht so weit gehen, dass wir geradezu das Leben mit fermentativen Vorgängen identificiren dürfen, so spielen doch die Fermente in dem gewaltigen Kreislauf der Sonnenenergie, der den Gesammtstoffwechsel aller Lebewesen ausmacht, eine eminent wichtige Rolle.

Diese Stoffe, aus denen sich der pflanzliche und thierische Körper aufbaut, werden ihm wohl niemals in der Form dargeboten, wie sie im lebenden Protoplasma vorhanden sind, sondern stets muss ihrer Aufnahme in das Protoplasma eine Veränderung vorhergehen, die wir als Assimilation im weitesten Umfange bezeichnen können.

Diese Assimilation vollzieht sich im Wesentlichen durch zwei Processe, durch Synthese und Spaltung. Beide sind nothwendige Functionen jedes lebenden Wesens. Jedoch ist die Ausdehnung und die physiologische Bedeutung dieser einzelnen Processe bei den beiden grossen Hauptstämmen des Organismenreiches verschieden. Nicht dass wir im Allgemeinen berechtigt wären, hier eine scharfe Grenzlinie zu ziehen und zu definiren, dass den Thieren ein vorwiegend spaltender, den Pflanzen ein vorwiegend aufbauender Stoffwechsel zukäme; denn nicht der Umfang eines Processes macht seine biologische Bedeutung aus. Für das Thier ist der synthetische Aufbau seines Protoplasmas aus den Bruchstücken der Nahrungseiweissstoffe, seines Glycogens aus fremden Kohlehydraten genau so unentbehrlich, wie andererseits für die Pflanze die Athmung und die Ernährung des Keimlings, die unter Spaltung einhergehen. Nur wenn wir den Umfang beider Processe vergleichen, ihn an den Zahlengrössen der umgesetzten Energie messen, dann allerdings kommen wir zu dem Schluss, dass den Pflanzen ein vorwiegend aufbauender, mit Verbrauch von Energie verbundener Stoffwechsel zukommt, während bei den Thieren der spaltende Stoffwechsel überwiegt. Und nur in diesem Sinne dürfen wir das Bild festhalten, dass die Pflanze die ihr in Licht und Wärme

zugeführte Energie aufspeichert; das Thier diese potentielle Energie wieder in kinetische: Bewegungsenergie, Wärme u. s. w. umsetzt. Die Pflanze hat eben in ihrem Lebensprocess die ihr allein innewohnende, an das Chlorophyllsystem gebundene Fähigkeit, aus völlig energielosen, einfachen Stoffen, wie Wasser, Kohlendioxyd, Stickstoff und anorganischen Salzen jene complicirten Stoffe entstehen zu lassen, welche dann erst das Substrat für alle weiteren Stoffwechselumsetzungen darbieten. Aber abgesehen davon zeigen bei Pflanzen und Thieren die Umsetzungen dieser Stoffe denselben Modus. Aus den unlöslichen, für die Zelle unverwerthbaren hochcomplexen Stoffen, den Proteïnen, der Stärke (und Cellulose) und den Fetten, werden zuerst durch Spaltung einfachere Stoffe gebildet (erste Phase) und diese, je nach ihrer physiologischen Bestimmung, entweder durch neuen Aufbau in Bestandtheile des Protoplasmas[1]) umgewandelt oder aber, zur Erzeugung der zur Bildung von Wärme, Licht, Elektricität etc. nöthigen kinetischen Energie weiter gespalten[2]) (zweite Phase). Während nun diese zweite Phase des Abbaues bei den Thieren in besonders prägnanter Form erscheint, bei den Pflanzen jedoch mehr zurücktritt, ist die erste Phase, der Abbau bis zu solchen Producten, welche durch neuen Aufbau dem Protoplasma eingeordnet werden können und dieser erneute Aufbau selbst ein biologisch bei Pflanzen und Thieren gleich bedeutsamer Process. Hier wie dort finden wir den Abbau complicirter unbrauchbarer Stoffe zu einfacheren und Assimilation dieser einfacheren, löslichen Stoffe an das Protoplasma.

Bei der vorbereitenden Spaltung sind nun die Fermente sehr wirksam betheiligt; inwieweit sie auch an den synthetischen Processen mitwirken, lässt sich nur von Fall zu Fall entscheiden. Jedenfalls spielen auch bei den intracellulären Vorgängen Fermente eine grosse Rolle, deren Erforschung noch in den Anfängen steckt.[3])

Und so darf es uns denn nicht Wunder nehmen, wenn wir den

[illegible] Aus dem Protoplasma entstehen dann durch secundäre Umsetzungen [illegible] Wesentlichen abbauender Art alle jene chemischen Stoffe, welche ausser [illegible]plasma noch irgend welche Functionen bekannter oder unbekannter [illegible] haben: Knochen, Blutfarbstoff, Pigmente, Holz, ätherische Oele, [illegible] Diese Processe berühren das hier vorliegende Problem also nicht.

[illegible] Ansicht von Kassowitz (Allg. Biologie. Wien 1899) findet [illegible] Verbrauch zum Zweck der Energiebildung erst nach Aufnahme [illegible] (metabolisch) statt. Er nimmt also, schematisch ge[illegible] divergirende Zweitheilung der zweiten Phase an, sondern [illegible] Aufnahme in das Protoplasma, der dann eine dritte Phase [illegible]) folgt.

[illegible]. Die chemische Organisation der Zelle. Braun- [illegible]

Fermenten überall begegnen, wo Leben sich regt. Von dem winzigen Bacterium und den seltsamen Myxomyceten an durch die ganze Pflanzen- und Thierwelt bis zu den höchstorganisirten Blüthenpflanzen und den Säugethieren finden wir sie überall in ihrer bedeutsamen Thätigkeit. Während in den Auszügen oder Presssäften einzelliger Lebewesen die verschiedenen nothwendigen Fermente in buntem Gemisch vereinigt sind, finden wir in den höheren Organismen besondere Organe, denen ihre Production obliegt.

So zeigen sich einzellige und höhere Lebewesen gleichmässig im Stande, mit Hilfe ihrer Fermente die ihnen als Nährstoffe dargebotenen Eiweisskörper, Kohlehydrate und Fette so vorzubereiten, dass sie zu assimilirbaren Stoffen werden.

Betrachten wir z. B. den Vorgang bei einem höheren Thier. Schon im Munde beginnt die Thätigkeit der Verdauungsfermente. Die unbrauchbare Stärke wird schon hier zum Theil in löslichen Zucker umgewandelt. Dieser Process sistirt, sobald oder kurz nachdem die Nahrung in den Magen gelangt ist. Hier hingegen beginnt der Abbau der Proteïne durch das Pepsin, der begleitet wird durch die Gerinnung der Milch durch das Labferment. Die energischste Veränderung erleiden indess die Nährstoffe erst im Darm. Hier werden die Fette gespalten, die Spaltung der Eiweissstoffe zu Ende geführt, die eingeführten Kohlehydrate durch verschiedene Fermente in aufnahmefähige Monosacharide (Glucose, Galactose, Fructose) übergeführt.

Ganz ähnlich müssen wir uns den Verlauf bei den Pflanzen denken. Wohl ist es möglich, dass die Pflanzen einen Theil ihrer assimilirten Stoffe bei der Synthese aus den einfachen Nährstoffen nur bis zu dem Punkte aufbauen, dass er direct resorptionsfähig wird, z. B. direct durch Synthese Zucker erzeugen; wir wissen das nicht.[1])

Sicher ist es indessen, dass sie in der Zeit des Ueberflusses, wenn im Sonnenlichte aufbauende Processe sich entfalten, einen grossen Theil dieser Processe so weit vorschreiten lässt, dass sich höhere, nicht ohne erneute Spaltung assimilirbare Producte bilden, die sie zum Theil selbst in den Zeiten mangelnder Assimilation (z. B. in der Nacht) mit Hilfe von Fermenten zur Aufnahme in die Zelle oder zur Erzeugung von Lebensenergie heranzieht, oder aber in ihren Fortpflanzungsorganen aufspeichert. Der pflanzliche Embryo, der, getrennt von der Mutterpflanze, auf sich selbst angewiesen, sein neues Dasein beginnen muss in einem Boden, der ihm nichts bietet als Wasser und

1) Es spricht indessen besonders für die Kohlehydrate manches dafür, dass z. B. die Stärke nur Reservestoff ist, d. h. dass ein grosser Theil des Zuckers direct nach dem synthetischen Entstehen in der Pflanze verbraucht wird.

Nährsalze, ist versehen mit einer reichlichen Menge von Reservenährstoffen, die ihm so lange zur Erhaltung dienen sollen, bis ihm die Schaffung eines eigenen Chlorophyllsystems die unabhängige Existenz gewährleistet. Diese Nährstoffe sind aber durchaus in der gebotenen Form für den Embryo unbrauchbar: Eiweissstoffe, Stärke, Cellulose und Fette. Um sie zu verwerthen, bedient sich der Pflanzenembryo der Enzyme, welche ihm diese Stoffe in brauchbarere überführen.

Ganz analog scheint sich der thierische Embryo zu verhalten. dessen Entwicklung, getrennt vom mütterlichen Organismus, im Eidotter beginnt, wie bei Vögeln etc.

Besonders interessant ist die an den verschiedensten Beispielen constatirte Thatsache, dass die Fermente ausschliesslich oder doch vorwiegend dann von der Zelle producirt werden, wenn sie gebraucht werden, resp. wenn keine ohne Weiteres resorbirbaren Nährstoffe zur Verfügung stehen.

So erklären Brown und Morris[1]) die Thatsache, dass am Morgen der Diastasevorrath der Blätter am grössten ist, am Tage dagegen abnimmt, auch dadurch, dass während der Assimilation im Sonnenlicht, die direct Zucker erzeugt, die Diastaseproduction als überflüssig sistirt: freilich wird durch das Licht die Diastase auch direct zerstört (s. b. Diastase).

Ferner enthält der ruhende Samen der Pflanzen kein Ferment oder nur geringe Mengen. Der Embryo ist noch nicht zum Leben erweckt, ein Bedürfniss für die Umsetzung der aufgespeicherten Reservestoffe ist nicht vorhanden. Sobald aber die Keimung beginnt, treten die nöthigen Fermente auf. Der Embryo bildet sich dann die sacharificirenden, proteolytischen, fettspaltenden, cellulosespaltenden Fermente. deren er zur Nutzbarmachung seiner ihm mitgegebenen Vorräthe bedarf.[2]) Brown und Morris[3]) zeigten, dass der Gerstensamenembryo keine Diastase producirt, wenn man ihm resorbirbare Zucker zur Verfügung stellt. Ueberhaupt findet sich in den Pflanzen nur dort Diastase, wo Stärke „wandert", bei der Kartoffel z. B. nur in den keimenden Knollen und den Blättern (A. Mayer[4])).

Aehnlich bilden die Schimmelpilze keine Fermente, solange man sie auf Nährböden züchtet, denen sie ohne Weiteres ihren Bedarf entnehmen können; sie bilden aber sofort proteolytische Enzyme, wenn man sie auf Eiweissnährboden cultivirt, Diastase, wenn man ihnen Stärke vorsetzt etc. Pilze bilden, wenn man sie auf Weinsäure und

1) Brown und Morris, Journ. chem. Soc. 63. 604 (1893).
2) s. d. z. B. Hansen, Arb. bot. Inst. Würzb. III. 285.
3) Brown und Morris, Journ. chem. Soc. 57. 395 (1890).
4) A. Mayer, Chem. Centrbl. 1900. I. 824.

Stärke enthaltenden Nährböden cultivirt, erst dann Diastase, wenn die Weinsäure verbraucht ist. Allerdings findet sich in auf Glucoselösung gezüchteter Hefe trotzdem Invertase.[1]) Nach Auerbach[2]) bilden Bacterien, auf Glucose gezüchtet, keine proteolytischen Fermente, ebensowenig nach Fermi und Montisano[3]) Emulsin.

Nach van Tieghem[4]) greift der Bacillus Amylobacter nur dann Cellulose an, wenn man ihm keine andere Kohlenstoffquelle zur Verfügung stellt.

Ganz ähnlich verhalten sich Hefen, die man auch an Nährstoffe assimiliren kann, an die sie eigentlich nicht angepasst sind; sie „lernen" es aber schliesslich, die passenden Enzyme zu produciren; besonders Dienert hat solche interessanten Versuche angestellt (s. b. alkoholische Gährung).

Ein analoges Beispiel aus der Thierwelt erwähnt Cl. Bernard[5]). Die Larven der Musca lucilia, einer häufigen Fliege, enthalten viel Glycogen, aber kein Ferment, das es spaltet (Diastase). Sobald aber die Larven in das Stadium der Chrysaliden übergehen, wo sie das aufgespeicherte Glycogen verbrauchen, findet sich bei ihnen diastatisches Ferment. Fermi und Repetti[6]) fanden bei parasitischen Würmern keine proteolytischen Fermente.

Auch bei höheren Thieren hat es den Anschein, als ob durch den specifischen Reiz der Nährstoffe auf den Darm immer gerade die passenden Enzyme reichlicher gebildet werden: so fand Weinland, dass bei Milchzuckerfütterung sich im Pankreas Lactase bildet, und im Pawlow'schen Institut sind allgemeinere Beziehungen dieser Art für die Secretion an permanenten Pankreasfisteln festgestellt worden (Walther[7])).

Und nicht nur die Secretion von geeigneten Enzymen wird auf physiologische Reize hin ausgelöst, die Enzyme selbst werden den Anforderungen der Umgebung angepasst. So kommt es, dass die specifisch gleichwirkenden Enzyme der Organismen, die wir unter einem Gruppennamen zusammenfassen, sich doch bei verschiedener Provenienz als verschieden erweisen, besonders wenn die erzeugenden Organismen unter verschiedenen Bedingungen existiren. So zeigen die verschie-

1) s. d. z. B. Wortmann, Z. phys. Ch. VI. 305.
2) Auerbach, Centralbl. f. Bact. (2) Bd. IV.
3) Fermi und Montisano, Apoth.-Ztg. 1894. 533.
4) van Tieghem cit. n. de Bary, Vorlesgn. üb. Bacterien. Leipzig 1885. S. 65.
5) Cl. Bernard, Revue scientif. 1873. 515, cit. n. Schützenberger, l. c. S. 254.
6) Fermi und Repetti, C. f. Bact. 31. 403 (1902).
7) Walther, Arch. scienc. biolog. St. Pétersbourg. VII, 1 (1899).

denen Invertasen, Maltasen, Emulsine doch beträchtliche Differenzen im Verhalten gegen Säuren, Alkalien, Salze, Gifte und Temperaturänderungen. Wir werden die Details bei den einzelnen Fermenten besprechen: ich möchte hier nur zwei sehr charakteristische Fälle anführen:

Das Pepsin des Warmblütermagens ist schon bei 10° unwirksam, während das des Frosches noch bei 0° wirksam ist.

Ganz analog hat die Invertase obergähriger Hefen, die also an relativ hohe Temperaturen angepasst sind, ein Wirkungsoptimum, das ca. 25° höher liegt, als das der untergährigen Hefen, also bei einer Temperatur, bei der diese Invertase schon ziemlich schnell zerstört wird.

Jedoch nicht nur die qualitative Bildung der Enzyme richtet sich nach ihrer geforderten Function, auch die gebildeten Mengen stehen in constanten Verhältnissen zu der geforderten Leistung.

Diese Relationen sind besonders von Pawlow[1]) und seinen Schülern an ihren quantitativ erhaltenen Verdauungssäften studirt worden.

Beim Magensaft richtet sich die Pepsinmenge fast mathematisch genau nach der Menge und Art des zugeführten Eiweissstickstoffes. Wenn Broteiweiss 1600 Pepsin (berechnet nach der Schütz'schen Regel) verlangt, braucht Fleischeiweiss nur 430 und Milcheiweiss nur 340.

Noch frappanter ist es, wie sich das Pankreassecret den Erfordernissen anpasst. Pawlow giebt dafür folgende Tabelle, wobei die Kostmaasse Stickstoffäquivalenten entsprechen:

Nahrung	Menge d. Saftes	Eiweissferment		Diastase		Lipase	
		Conc. d. Saftes	Ferm.-Einh.	Conc.	F. Einh.	Conc.	Ferm.-Einh.
600 ccm Milch	48 ccm	22,6	1085	9	432	90,3	4334
50 g Brot	151 „	13,1	1978	10,6	1601	5,3	800
100 g Fleisch	144 „	10,6	1502	4,5	648	25,0	3600

Es ist geradezu erstaunlich, welche Regelmässigkeiten sich hier entwickeln:

Milch braucht viel Fettferment, Brot sehr wenig; Brot aber viel mehr Diastase als Fleisch und Milch etc. Auch hier wieder braucht Broteiweiss mehr Ferment als Milch- und Fleischeiweiss. Bei Nahrungsänderungen tritt eine regelmässige Anpassung der Fermentproduction an die neuen Anforderungen ein. Beim Magensaft wird eine derartige Anpassung indessen vermisst.

1) Pawlow, Arbeit d. Verdauungsdrüsen, dtsch. von Walther, Wiesbaden 1898 S. 47 ff.

Die Fermente werden indessen nicht nur dann gebildet, wenn wirklich Nährstoffe vorhanden sind, die dem Nahrungsbedürfniss abhelfen sollen, sondern auch, wenn zwar der physiologische Reiz der gleiche ist, indessen die Mittel zu seiner Befriedigung fehlen, also im Hungerzustand.

An Schimmelpilzen hat man vielfach beobachtet, dass sie besonders dann Fermente bilden, wenn man ihnen die Nährstoffe entzieht (Fernbach[1])). Sie brauchen diese allerdings auch, um die in ihren Zellen selbst aufgespeicherten Nährstoffe zu verwerthen, aber ihre Entstehung ist doch wohl im Allgemeinen auf die Gleichartigkeit der Veranlassung: Mangel an direct aufnahmefähiger Nahrung zurückzuführen. Sie entstehen also gewissermassen in Vorberechnung, um etwa neu eintreffende Nahrungszufuhr sofort verarbeiten zu können.

Auf dieselbe Weise ist auch zu erklären, dass die Verdauungsenzyme der höheren Thiere, besonders die des Magens und des Pankreas am reichlichsten längere Zeit nach der Mahlzeit oder in nüchternem Zustande in den Drüsen gefunden werden (Grützner, s. b. Pepsin etc.).

Bei den Pawlow'schen Hunden setzt auch dann die Pepsinproduction ein, wenn sie nur scheinbar (durch den unten durchschnittenen Oesophagus) gefüttert werden, aber keine Speise in den Magen gelangt oder man ihnen die Speisen nur vorhält. Die Secretion ist also ein psychischer Reflexact, nicht ein mechanischer Reiz der Nahrung. Nach Durchschneidung der Vagi hört diese Secretion auf. Die Art der scheinbar zugeführten Nahrung ist von grossem Einfluss auf diese specifische Reaction, indem Fleisch einen pepsinreicheren Saft provocirt als Brot (Pawlow l. c. S. 67). Doch ist die Secretion nicht allein vom Vagus abhängig. Ganz ähnlich verhält sich das Pankreas, wo die Existenz von anatomisch trennbaren secretorischen und secretionshemmenden Nerven im Vagus und Sympathicus direct bewiesen werden kann. Doch wird von anderer Seite der rein chemische Reiz des „Secretins" für die Pankreasabsonderung verantwortlich gemacht (s. b. Trypsin).

Wir sehen aus alledem, eine wie eminente Rolle die Fermente im Lebenshaushalt der Organismen spielen, und wir dürfen Nasse[2]) nur beipflichten, wenn er die Fermentprocesse als einen „wesentlichen Theil" der Lebensvorgänge ansieht. Ihre Hauptfunction besteht in der Zugänglichmachung an sich unbrauchbarer Nährstoffe.

Inwieweit auch noch andere biologische Vorgänge in den Organismen Fermentprocesse sind, muss die Zukunft lehren; zweifellos

---

1) **Fernbach**, Ann. Inst. Pasteur. IV. 1 (1890).
2) **Nasse**, Pflüg. Arch. XI. 163.

können auch manche synthetische Vorgänge durch Fermente bewirkt werden.

Die Bedeutung derartiger Processe lässt sich also noch garnicht übersehen. Sie spielen wohl in allen Phasen des Lebenshaushaltes mit, was besonders nachdrücklich Hofmeister[1]) betont hat.

Verbreitung der Fermente in der Natur. Wir haben schon kurz auf die universelle Verbreitung der Fermente hingewiesen. In der That kann man sie im ganzen Organismenreich nachweisen, so dass man sie als eine ständige Begleiterscheinung des Lebens betrachten kann.

In den niedersten Organismen, den Bacterien, findet man Fermente der verschiedensten Art, besonders proteolytische und diastatische, seltener invertirende (Fermi[2])). Proteolytisches Ferment in Amöben fand Mouton[3]). In Fuligo septica fand Krukenberg proteolytisches Ferment; in Sprosspilzen finden sich sicher ausser der Zymase noch sämmtliche sacharificirenden Fermente, doch auch proteolytische. In Schimmelpilzen und auch höheren Pilzen sind zahlreiche Fermente, besonders durch die Arbeiten von Bourquelot und seinen Schülern entdeckt worden; in den Säften nnd Organen der höheren Pflanzen, Blättern, Blüthen etc. findet man sie nicht minder weit verbreitet.

In Schwämmen fand u. A. Cotte[4]) verschiedene Fermente.

In den Organen niederer Thiere sind sie besonders von Krukenberg systematisch aufgesucht worden, in Insecten sind sie von Basch, Erlenmeyer, Biedermann[2]) u. A. gefunden worden.

Die Fische hat wiederum Krukenberg auf Fermente untersucht und sie sowohl im Munde als im Darm nachweisen können.

In Amphibien fanden Fick u. A. Fermente.

Am genauesten erforscht wurden natürlich die Fermente der Säugethiere. Bei ihnen fand man Fermente nicht nur in den eigens [illegible] ihre Production eingerichteten Organen, sondern weit im Körper, [illegible] allen Geweben und Gewebssäften verbreitet. Besonders den sachari[illegible]ten Fermenten, Diastase etc., kommt eine fast ubiquitäre Gegen[illegible] den Geweben zu, da man sie nicht nur in Milz, Niere, Leber [illegible] sondern auch im Blut, der Lymphe und den Secreten, im [illegible] Schweiss[5]) etc. Auch in pathologischen Bildungen, im [illegible]kranker (Filehne), in Exsudaten (Eichhorst), in

[1]) [illegible] Chem. Organisation der Zelle. Braunschweig 1902.
[2]) [illegible] findet sich im speciellen Theil.
[3]) [illegible] 53. 801 (1901).
[4]) [illegible] 95 (1901). 55. 137 (1903).
[5]) [illegible] 115 (1891).

Cystenflüssigkeit (v. Jaksch) konnte man sie entdecken. Im Eiter fand Achalme[1]) alle möglichen Fermente.

Auch im werdenden Organismus finden sie sich weit verbreitet. Die Fermente keimender Samen sind in ihrer biologischen Bedeutung schon erwähnt. Die Diastase der Gerstenkeimlinge war das erste überhaupt erkannte diastatische Ferment (Payen und Persoz). Später fand man in den Samen auch proteolytische (v. Gorup-Besanez) fettspaltende, glucosidspaltende und andere Fermente. Für das Hühnerei ist die Existenz proteolytischer und diastatischer Enzyme sehr wahrscheinlich.

Auch in thierischen und menschlichen Embryonen hat man Fermente gefunden. Langendorff[2]) hat diese Frage einer genauen Untersuchung unterzogen. Er fand sie bei allen untersuchten Säugethieren und Vögeln, doch zeigten sich charakteristische Unterschiede. Während Trypsin bei allen sich sehr früh nachweisen lässt, fehlt vor der Geburt das Pepsin bei Fleischfressern völlig, bildet sich dagegen bei Pflanzenfressern relativ früh. Diastase findet sich früh bei Schwein, Ratte und Rind, fehlt aber vor der Geburt beim Menschen und Kaninchen. Das erste Auftreten von Fermenten überhaupt fand sich beim Schweineembryo bei einer Länge von 120 mm. Dahl[3]) hat für die Entwicklung der Pankreasfermente festgestellt, dass sich erst das Trypsin, dann die Lipase und zuletzt die Diastase bildet.

Jacoby[4]) hat bei Schweineembryonen bis 3 cm Länge die Aldehydase vermisst, fand sie aber in der Leber von Embryonen von mehr als 9 cm Länge. Auch Fermi und Repetti (l. c.) haben in Föten proteolytische Fermente gefunden. In der Placenta fand Ascoli[5]) ein proteolytisches Ferment.

Eine grosse Rolle spielen die Fermente auch bei pathologischen Verhältnissen. Nicht nur in dem Sinne, dass durch ihre krankhafte Verminderung infolge zerstörender Processe direct Functionsstörungen der Lebensvorgänge eintreten können; auch bei dem Ablauf der Krankheitsvorgänge spielen sie eine grosse Rolle.

Die Einschmelzung von Geweben, wie sie bei so vielen krankhaften Processen eintritt, wird in vielen Fällen durch Fermente bedingt, die intra vitam in den Geweben wirksam sind. Diese „Autolyse", auf die wir im speciellen Theil näher eingehen werden, scheint nicht nur

1) Achalme, Soc. Biol. 51. 568 (1899).

2) Langendorff, Du Bois A. f. Phys. 1879. 95 (dort die gesammte ältere Litteratur). Weiteres s. a. im speciellen Theil.

3) Dahl, Diss. Dorpat 1890, cit. n. Centralbl. f. Physiol. 1891. 509.

4) Jacoby, Z. phys. Ch. 33. 128 (1901).

5) Ascoli, C. f. Phys. 1902 (H. 5).

bei krankhaften Zerstörungsprocessen, wie z. B. bei der acuten gelben Leberatrophie, dem Carcinom etc. von Wichtigkeit zu sein, sondern auch bei der heilsamen Auflösung kranker Gewebsbildungen, namentlich der Infiltration in pneumonischen Lungen. Diese Fermente scheinen z. Thl. Zerfallsproducte der Leukocyten zu sein, weshalb sie auch im Eiter vorkommen. Andererseits enthalten auch andere Organzellen ähnliche Fermente.

Die Frage, inwieweit die Leukocyten Hauptbildner dieser so wichtigen Endoenzyme sind, ist trotz eifriger Bearbeitung noch garnicht geklärt. Es handelt sich hier ebensowohl um die bei der Autolyse thätigen Fermente, als auch um die „Complemente" der Plasmatolyse, auf die wir im speciellen Teil näher eingehen werden. Trotz vieler Angriffe hält die Metchnikoff'sche Schule an der Bedeutung der Leukocyten für die Bildung dieser Endoenzyme eigener Art fest.

Sehr wichtig in Bezug darauf ist ein ganz neuer Befund aus dem Ehrlich'schen Institut. Kyes und Sachs[1]) fanden nämlich Endocomplemente (für das Cobragifthaemolysin) in den rothen Blutkörperchen selbst, womit also auch diese Elemente in den Kreis dieser Betrachtung gezogen werden. Ob man also später ein eigenes Kapitel: „Endoenzyme der Leukocyten" wird schreiben dürfen, steht dahin.

1) Kyes und Sachs, Berl. klin. Woch. 1903. No. 2—4. S.-A.

Specieller Theil.

A. Die hydrolytischen Fermente.

Neuntes Capitel.

Die proteolytischen Fermente; das Pepsin.

Die proteolytischen Fermente haben die Fähigkeit, Eiweissstoffe ohne Mitwirkung lebender Organismen in bestimmter Weise zu zerlegen und in einfachere Stoffe überzuführen. Ueber die chemischen Vorgänge bei diesen Processen kann man nichts Bestimmtes aussagen, da die Constitution nicht nur der genuinen Eiweissstoffe, sondern auch eines Theiles der Spaltungsproducte völlig dunkel ist. Man muss sich damit begnügen, die Endproducte dieser fermentativen Vorgänge zu isoliren und ihre chemische Natur so weit als möglich festzustellen.

Die proteolytischen Enzyme sind in drei Hauptgruppen gesondert. Die eine Gruppe von Enzymen, deren wichtigste Repräsentanten das dem Magen der Wirbelthiere eigenthümliche Pepsin und die ihm analogen Fermente sind, wirken unter normalen Bedingungen weniger energisch auf das Eiweissmolecül ein; sie führen zu Stoffen von noch unbekannter Natur, den Albumosen und Peptonen; bei protrahirter Einwirkung führen sie jedoch auch zu tieferer Spaltung. Sie sind meist nur in schwach saurer Lösung wirksam. Die Enzyme der zweiten Hauptgruppe, vom Trypsin repräsentirt, in neutraler oder schwach alkalischer Lösung wirksam, bauen das Eiweissmolecül in sehr energischer, der Spaltung mit starken Säuren fast genau entsprechender Weise ab; es entstehen dabei relativ einfache, zum grossen Theil in ihrer chemischen Constitution bekannte und synthetisch hergestellte stickstoffhaltige Stoffe, namentlich Aminosäuren und Diaminosäuren, die sog. Hexonbasen. Eine Untergruppe dieser proteolytischen Fermente sind diejenigen, die in neutraler odor schwach saurer Lösung Wirkungen entfalten, die dem Trypsin ähnlich sind; hierher gehören die Fermente niederer Thiere, das Pseudopepsin des Säugethiermagens und die proteolytischen Pflanzenfermente, besonders das Papayotin. Ferner gehören hierher auch die proteolytischen Fermente der niederen Pilze und die sog. autolytischen Fermente der Organe und der Hefe. Die dritte Gruppe der eiweissverwandelnden Fermente

sind die coagulirenden Enzyme, zu denen das Labferment, sowie das Fibrinferment gehören. Den coagulirenden Fermenten schliesst sich auch die wenig erforschte Pectase an. Die proteolytischen Fermente spielen naturgemäss im Stoffwechsel der Thiere und auch der Pflanzen eine grosse Rolle. Bei den Thieren sind sie ein Secret der Verdauungsdrüsen; sie finden sich demgemäss in den Säften des Digestionstractus, und zwar haben die Fermente vom Pepsintypus, die peptischen Fermente, vorwiegend im Magen ihren Ort, um dort gewissermassen die Vorarbeit zu leisten, während späterhin die tryptischen Fermente des Pankreas die weitere Spaltung im Darm übernehmen. Im Uebrigen zeigen die neueren Untersuchungen, dass den proteolytischen Enzymen eine ungemein grosse Verbreitung nicht blos im Thierreich, sondern auch im Pflanzenreich zukommt.

Nach Fermi[1]) soll das Pepsin, das phylogenetisch später auftritt als das Trypsin, nur eine durch die Acidität des Mediums bedingte Modification des letzteren sein. Dagegen spricht indessen nicht nur die verschiedene Wirksamkeit, sondern nach den spärlichen Angaben auch die stoffliche Verschiedenheit beider Fermente.

Proteolytische Fermente sollen nur auf totes Protoplasma wirken, lebende Zellen dagegen unversehrt lassen. Fermi[1]) giebt an, dass lebende Amöben, Schizomyceten und Pilze von Pepsin nicht angegriffen würden. Er glaubt in dieser Resistenz des lebenden Protoplasmas gegen Verdauungsfermente den Grund dafür zu finden, dass die lebende Magenschleimhaut sich nicht selbst verdaut, während nach dem Tode sogleich die Selbstverdauung beginnt. Indessen ist die Resistenz gegen das Pepsin noch sehr fraglich.

Dagegen ist das lebende Protoplasma gegen die tryptischen Fermente thatsächlich ungemein resistent. Matthes[2]) konnte zeigen, dass rothe Blutkörperchen von Trypsin nicht angegriffen werden, solange sie lebend sind, wogegen allerdings Delezenne[3]) mit Hilfe sehr wirksamer Trypsinpräparate eine Lösung frischer Erythrocyten und Abspaltung von Hämatin beobachtet hat. Weinland[4]) zeigte die absolute Resistenz von Eingeweidewürmern gegen Trypsin, die er auf die Bildung von Antifermenten zurückführt. Auch genuine Eiweissstoffe, namentlich des Serums zeigen eine zwar nicht absolute, aber doch auffallend grosse Widerstandsfähigkeit gegen Trypsin (Michaelis und Oppenheimer[5])).

1) Fermi. Arch. ital. d. Biol. 1895. 433.
2) Matthes. Münch. med. Woch. 1902. S. 8.
3) Delezenne. Soc. Biol. 55. 171 (1903).
4) Weinland. Z. f. Biol. 44. 1. 45 (1902) S.-A.
5) Michaelis und Oppenheimer, Engelmann's Arch. f. Phys. 1902.

Abgesehen von der von Weinland nachgewiesenen Bildung von Antifermenten für lebendes Gewebe muss man hier wohl auch an den Mangel passender Angriffspunkte für das Enzym denken. Sobald der Eiweisskörper irgendwie erheblich verändert ist (Coagulation, Säurewirkung, kurze Pepsinverdauung) wird er durch Trypsin leicht weiter verdaut.

Indessen konnte Weinland die Existenz von wirklichen Antifermenten dadurch nachweisen, dass die zellfreien Extracte von parasitischen Würmern, aber auch von Magen- und Darmschleimhaut, sowie von Erythrocyten Fibrin vor der Auflösung schützten.

Die Antifermente werden durch Erhitzen zerstört (10′ bei 95°), ebenso durch Säuren. Das Antiferment lässt sich durch Alkoholfällung in trockenem Zustande gewinnen. Das Antiferment wirkt nicht zerstörend, sondern nur hemmend.

Nach den letzten Untersuchungen von Dastre[1]) und Delezenne[2]) soll es sich sowohl bei der Resistenz der parasitischen Würmer, als auch bei der „antitryptischen" Wirkung des Blutserums nicht um ein Antitrypsin, sondern um eine „Antikinase" handeln, die die Activirung des Trypsins durch die „Kinase" (s. o.) verhindert (Näh. s. b. Trypsin).

Das Pepsin. Dass dem Magen eine bedeutende Rolle bei der Verdauung zufällt, war schon den alten Aerzten bekannt; schon frühzeitig hatte man auch angenommen, dass nicht die Säure des Magens allein hinreicht, um die Nährstoffe zu verdauen, sondern dass dabei noch ein „Ferment", ein dem wirksamen Princip der Gährung ähnlicher Stoff, mitwirke (van Helmont.[3])) Die Bedeutung des Magensaftes und der Drüsen des Magens erkannte klar zuerst Borelli. Réaumur[4]) stellte dann fest, dass die Magenverdauung von der mechanischen Kraft des Magens unabhängig sei, vielmehr die Nährstoffe einer chemischen Umwandlung durch den Magensaft unterliegen, und constatirte die Wirkungslosigkeit des Magensaftes auf pflanzliche, i. e. kohlehydratreiche Nahrungsmittel. Es folgten dann die klassischen Untersuchungen von Spallanzani[5]), der den Unterschied zwischen den Gährungs- und Fäulnisserscheinungen und der Magen-

1) Ueber die ältere Litteratur zur Kenntniss der Magenverdauung s. u. A. Gamgee, Physiologische Chemie der Verdauung, übers. von Asher u. Beyer, Leipzig u. Wien 1897. S. 61 ff.

2) Dastre und Stassano, Soc. Biol. 55. 130 (1903).

3) Delezenne, Soc. Biol. 55. 132 (1903).

4) Réaumur, Mém. de l'Acad. des Sciences. 1752. p. 461.

5) Spallanzani, Versuche üb. d. Verdauungsgeschäft. Deutsch von Michaelis. Leipzig 1785.

verdauung klar zum Ausdruck brachte, und der zuerst mit Magensaft ausserhalb des Körpers Verdauungsvorgänge demonstriren konnte. Damit beginnt also eigentlich die Geschichte des peptischen Fermentes, die sich nun in engem Zusammenhang mit der Geschichte der Magenverdauung überhaupt fortentwickelt. Beaumont untersuchte die Vorgänge im Magen an der Hand eines Falles von traumatischer Magenfistel, Prout und Tiedemann und Gmelin entdeckten unabhängig die Salzsäure im Magen.

Einen wichtigen Schritt zur Auffindung des Fermentes that Eberle[1]), der zuerst künstlichen Magensaft darstellte, und gab damit Veranlassung zu der klassischen Arbeit Schwann's[2]), der die Magenverdauung auf ein Ferment zurückführte, dem er den Namen Pepsin gab. Er zeigte, dass dieses Ferment nicht, wie Eberle angenommen hatte, dem Schleim angehöre und also an allen Schleimhäuten sich finde, sondern dass es ausschliesslich ein Product der Magenschleimhaut ist. Das Ferment selbst zu isoliren, gelang Schwann nicht; es ist auch bis jetzt noch nicht sicher gelungen, das Pepsin als chemisch reinen Körper zu isoliren.

Schwann selbst hat durch Ausfällen mit Quecksilberchlorid und Zerlegen des Niederschlages ein pepsinhaltiges Präparat gewonnen; Wasmann[3]) erzielte durch ein ähnliches Verfahren und Fällung des Filtrates mit Alkohol ein festes, wirksames Präparat. Auf einer Fällung durch Niederreissen mit frisch gefälltem phosphorsauren Kalk, Wiederlösung, Ausfällen durch Cholesterin und Auflösen des Cholesterins in Aether erzielte Brücke[4]) eine Pepsinlösung, die ebenfalls nicht rein war. Später benutzte v. Wittich[5]) die Eigenschaft der meisten Enzyme, in Glycerin löslich zu sein, zur Darstellung von Pepsinlösungen, aus denen er das Pepsin durch Alkohol fällen konnte. Zur Reinigung benutzte er auch nach dem Vorgang von Krassilnikoff die Dialyse[6]), da Pepsin nicht durch thierische Membranen und Pergamentpapier diffundirt. Ebenfalls durch Fällung mit phosphorsaurem Kalk und Dialyse stellte Maly[7]) eine Pepsinlösung dar. Andere Methoden rühren von Lehmann[8]), C. Schmidt[9]), Frerichs[10]) u. A. her.

1) Eberle, Physiolog. d. Verdauung auf natürlichem und künstlichem Wege. Würzburg 1834.

2) Schwann, Müller's Archiv 1836. S. 90. s. a. Joh. Müller u. Schwann, ibid. S. 66 und die dort citirte Diss. von Gerson, De Chymificatione arteficiosa. Berlin 1835.

3) Wasmann, De digestione animali. Diss. Berlin 1839. Wörtlich citirt in Hermann's Handbuch d. Physiol. V. Theil, II. S. 44.

4) Brücke, Vorlesg. üb. Physiol. 1874. Bd. I. S. 294.

5) v. Wittich, Pflüg. Arch. II. 193, III. 339.

6) v. Wittich, Pflüg. Arch. V. 435 (1877).

7) Maly, Pflüg. Arch. IX. S. 592 (1874).

8) Lehmann, Ber. d. sächs. Ges. d. Wiss. 1849. S. 10.

9) Bidder u. Schmidt, Verdauungssäfte. S. 45.

10) Frerichs, Verdauung. III. S. 782, cit. n. Brücke l. c.

Durch einfaches Abkühlen von Magensaft auf 0° gewann Frau Schoumow-Simanowski[1]) ein festes Product, das constant Chlorgehalt zeigte und das sie als „körniges Pepsin" bezeichnete.

Auf ähnlichem Wege, durch Dialysiren frischen Magensaftes, erhielt Pekelharing[2]) einen nucleoproteïdähnlichen Körper, der sehr wirksames Pepsin darstellt. Er spaltet sich in einen phosphorhaltigen und einen Eiweisskörper, eine Albumose. Friedenthal[3]) hält es jedoch für noch complicirter. Er konnte die Nucleoproteïdgruppe abspalten, ohne das Ferment unwirksam zu machen.

Nencki und Sieber[4]) haben die Untersuchung des „körnigen Pepsins" von Frau Schoumow-Simanowski wieder aufgenommen. Bei der Dialyse frischen Magensaftes nach Pawlow fällt ein Niederschlag, wobei ca. der fünfte Theil des Pepsins in Lösung bleibt. Beim Kochen mit HCl entsteht ein Nucleoproteïd und eine Albumose. Das Nucleoproteïd giebt beim Kochen mit H_2SO_4 Purinbasen und Pentosen.

Der Niederschlag enthielt Chlor, Eisen und Phosphor, doch enthielt auch stets das Dialysat des frischen Saftes dieselben Elemente. Der Chlorgehalt des centrifugirten Pepsinniederschlages erwies sich als constant zu 0,48 %; beim Waschen mit Alkohol vermindert sich der Chlorgehalt auf 0,188 %. Dagegen schwanken Eisen und Phosphor ganz beträchtlich. Der P-Gehalt betrug nur den zehnten Theil des von Pekelharing gefundenen. Beim Waschen mit Alkohol ging ein lecithinähnlicher Körper in Lösung. Trotzdem glauben Nencki und Sieber an die Individualität ihres Pepsins; die Abspaltungen durch Wasser und Alkohol erklären sie durch seine grosse Labilität. Es bestände das Molecül aus einem Nucleoproteïd und ausserdem noch aus Phosphorsäure, Eisen, Chlor und Lecithin. Diesem Riesenmolecül schreibt Nencki alle drei enzymatischen Functionen des Magensaftes: Eiweissverdauung, Labung und Plasteïnbildung (s. u.) zu, die durch verschiedene Theilcentren bewirkt werden.

Dieser Ansicht steht die Angabe von Glaessner entgegen, dass man das Zymogen des Labs von dem Propepsin quantitativ trennen kann, durch Fällung mit Uranylacetat und Natriumphosphat. Hier ist doch kaum eine so saubere Spaltung des Riesenmolecüls in 2 Theilmolekel ohne Schädigung der Wirksamkeit anzunehmen. So geistvoll und interessant die Speculation von Nencki ist; es fehlt vor

---

1) Schoumow-Simanowski, Arch. exp. Path. 33. 336.

2) Pekelharing, Z. f. phys. Ch. 22. S. 233. (1896/97).

3) Friedenthal, Arch. f. Anat. u. Phys. Phys. Abth. 1900. 181. Friedenthal u. Mijamota, C. f. Phys. XV. 785 (1901).

4) Nencki u. Sieber, Z. phys. Ch. 33. 291 (1901). Dies., Arch. d. scienc. biol. St. Pétersbourg. IX. 47 (1902).

verdau... ...n existirt: ...
ausse... ...tlichen Stoff ...
Damit ...
ment... ...ncki'sche Ansicht
der M... ...und den anderen
such... ...st es auf dem Boden
ma... ...Complex sich nicht
de... ...ruppen, sondern auch
...Dafür spricht ferner
...ss Lab und Pepsin stets
...weis, dass es sich wirk-
...ger handelt.
...atur des Pepsins sprechen
...Pekelharing[2] in seiner
...n hat, die er mit grösster
...rch Dialyse in völlig farb-
...t hat. Dieses Präparat war
...sphor. Damit ist die alte
...agegen fand er in Ueberein-
...gen Gehalt.
...roducte stimmen relativ sehr
...H 7; N — 14,3; S = 1,65%...
...Nencki angiebt, was durch das
...kann.

...sauren Magensaftes ausscheidet.
...isch zu sein. Dieser giebt bei
...Purinbasen und eine Eiweiss-
...Wasser schwer löslich ist, die
...stoff und Schwefel und giebt die

...stoff das reine Pepsin in Händen
...einwirkung, keine Fettspaltung.
...und Sieber, dass das Pepsin
...Ansicht, der ich mich theoretisch
...er That hat es den Anschein, als
...Körper wäre.

...die Frage des Entstehungsortes
...Es handelte sich hauptsächlich
...drüsen des Magens Pepsin liefern

...Fermentmengen im Magen. Tüb. 1901.
...
...1902.

oder auch die sog. Schleimdrüsen des Pylorus; fernerhin welche Zellen der Fundusdrüsen der Ort der Pepsinbildung sind. Die eine Reihe von Forschern vertrat die Ansicht, dass die Hauptzellen der Fundusdrüsen den Schleimdrüsen physiologisch homolog seien, beide die Pepsinsecretion besorgten, während den Belegzellen nur die Säureproduction zuertheilt ist (Heidenhain[1]), Fick[2]), besonders aber Ebstein[3]) und seine Schüler). Die Anderen hingegen sahen die Belegzellen als Sitz der Pepsinbildung an (Edinger[4]) bei Fischen, Nussbaum[5])) oder leugneten wenigstens den Antheil der Pylorusdrüsen (Kölliker[6]), Donders[7]), Friedinger[8]), Wolffhügel[9]), vor allem aber v. Wittich[10])). Nussbaum (l. c.) gab zwar zu, dass auch die Pylorusgegend Pepsin produciren könne, dass dann aber auch dort vorkommende Belegzellen die Pepsinbildner seien. Er wies ferner darauf hin, dass bei winterschlafenden Thieren die Belegzellen zum Theil verschwinden, wenn die Verdauung sistirt. v. Wittich hatte zuerst aus der Pylorusgegend einen unwirksamen Glycerinextract erhalten, und als dann Ebstein nachwies, dass auch die Pylorusgegend allein einen pepsinhaltigen Saft liefert, da wandten v. Wittich und seine Mitarbeiter ein, dass der Pylorustheil nicht an sich Pepsin enthalte, sondern von den Fundusdrüsen her damit imbibirt sei, und dass es auf diese Weise in den Auszügen aus dem Pylorustheil in die Erscheinung trete. Ganz sicher entschieden ist die Frage auch heute noch nicht, obwohl viel für die Ebstein'sche Anschauung spricht. Wichtiges Material lieferte die Untersuchung des Magens bei Fröschen. v. Swiecicki[11]) fand, dass hier das Pepsin hauptsächlich in der Speiseröhre von Drüsen gebildet wird, die den Hauptzellen des Magens ähnlich sind[12]), während im Magen selbst von den Belegzellen ähnlichen Drüsen ein saures Secret geliefert wird, was allerdings von

---

1) **Heidenhain**, Arch. f. mikr. Anatomie. VI. S. 368.

2) **Fick**, Verh. d. Würzb. Phys. Med. 1872. S. 121.

3) **Ebstein**, Arch. f. mikr. Anat. VI. S. 515. **Brunn u. Ebstein**, Pflüg. Arch. III. 565. **Ebstein u. Grützner**, Pflüg. Arch. VI. 1, ibid. VIII. 122, 617, XVI, 105.

4) **Edinger**, Arch. f. mikr. Anat. XIII, 651.

5) **Nussbaum**, Arch. f. mikr. Anat. XIII. 721, XV. 119, XVI. 532.

6) **Kölliker**, cit. n. **Ebstein**, l. c.

7) **Donders**, Physiologie. 1856. S. 208.

8) **Friedinger**, Sitzb. d. Acad. d. Wiss. Wien 1871. S. 325.

9) **Wolffhügel**, Pflüg. Arch. VII. 188.

10) **v. Wittich**, l. c., Pflüg. Arch. V. S. 434, VII. 18, VIII. 444.

11) **v. Swiecicki**, Pflüg. Arch. XIII. S. 444 (1876).

12) s. a. **Partsch**, Arch. f. mikr. Anat. XIV. 195.

Fränkel[1]) bestritten wird. Sewall[2]) fand bei jungen Schafembryonen nur Belegzellen in den Fundusdrüsen und kein Pepsin; erst später dort auch Hauptzellen, dann auch Pepsin, allerdings nimmt er trotzdem an, dass der Pylorus kein Pepsin producirt. Klemensiewicz[3]) gelang es mit Hilfe einer Operation vom lebenden Thier reinen Pylorussaft zu erzielen, der alkalisch reagirte und nach dem Ansäuern mit Salzsäure peptische Wirkungen zeigte. Heidenhain[4]) hat diese Resultate bestätigt, desgleichen Åkermann[5]), während Contejean[6]) sie bestritt.

Diese Widersprüche scheinen dadurch ihre Aufklärung zu finden, dass Glaessner[7]), der mit Hilfe der Untersuchung des fermentfreien Propepsins (s. u.) die Fehler einer eventuellen Imbibition ausschliessen konnte, folgende Anschauung vertritt: Nur der Fundus bildet echtes Pepsin, der Pylorus nicht. Beide aber bilden das von Glaessner angenommene Pseudopepsin, das sich vom echten Pepsin dadurch unterscheidet, dass es Tryptophan bildet, auch in schwach alkalischer Lösung wirkt und mit Uranylacetat nicht mit ausfällt. Klug[8]) kann indessen dieses Pseudopepsin absolut nicht finden. Gmelin (s. u.) giebt an, dass sowohl Pepsin als Lab zuerst von den Fundusdrüsen gebildet wird.

Das Pseudopepsin erinnert an die Beobachtung von Fick[9]) und Nussbaum[10]) dass das Pepsin der Pylorusgegend sich abweichend von dem der grossen Curvatur verhalten soll, nämlich weit mehr „Parapepton" (s. u.) bildend, analog dem Isopepsin von Finkler[11]), das dieser durch Erwärmen von Pepsin auf 60^0 erhalten haben will.

Die Pepsinsecretion des Magens ist durchaus nicht constant, sondern schwankt beträchtlich.

Sie hängt auch normaler Weise von der Nahrungsaufnahme ab; besonders aber ist der Grad der Umwandlung von Pepsinogen in actives Ferment bedingt durch die Acidität des Magensaftes.

1) Fränkel, Pflüg. Arch. 48. 63.
2) Sewall, Journ. of physiol. I. 321.
3) Klemensiewicz, Sitzb. d. Acad. d. Wiss. Wien. Bd. 71. III. Abth. [illegible]
4) Heidenhain, Pflüg. Arch. XVIII. S. 169.
5) Akermann, Skand. Arch. f. Physiol. V. 134 (1895).
6) [illegible]tejean, Arch. d. physiol. [5] 4. 554.
7) [illegible]essner, Hofmeister's Beitr. I. 24 (1901).
8) [illegible] Arch. 92. 280 (1902).
9) [illegible] Phys. Med. Ges. Würzburg. N. F. II. 122 (1872).
10) [illegible] Arch. f. mikr. Anat. XIII. 721 ff.
11) [illegible] Arch. XIV. 128 (1877).

Roth[1]) unterscheidet eine Hyperpepsie, bei der abnorm hohe Fermentmengen auftreten, von der Hypopepsie, bei der das Ferment sehr spärlich vorhanden ist. Erstere fand er besonders bei Ulcus ventriculi, letztere bei Carcinom und chronischer Gastritis.

Bei saugenden jungen Hunden fehlt es (Gmelin[2])), ebenso wie HCl und Lab. Alle treten erst ca. am 18.—26. Tage nach der Geburt auf. Nach Pawlow (l. c.) ist die pepsinliefernde Magensaftsecretion eine Function vorwiegend psychischer Reize, die durch den Vagus und Sympathicus vermittelt werden (s. im Allg. Theil). Eine rein mechanische Reizung hat keinen secretorischen Effect. Ebenso ist Zufuhr von Salzen oder Nahrungsstoffen direct in den Magen (durch Fistel) ohne Einfluss; nur Wasser hat einen schwachen Effect; ausserdem aber Fleischextract etc. Der Körper, der diese Wirkung hat, ist noch unbekannt. Kreatin etc. sind an sich ohne Einfluss. Fette wirken bei directer Einführung in den Magen intensiv hemmend auf die Secretion.

Pepsinogen (Propepsin). Dass das eigentliche Secret der Magendrüsen nicht das Pepsin selbst, sondern eine labile Vorstufe desselben ist, hatten schon Ebstein und Grützner[3]) wahrscheinlich gemacht. Sie fanden, dass diese Vorstufe nicht von Glycerin extrahirt wurde, so dass Glycerinextracte der Magenschleimhaut weniger wirksam waren, als solche mit verdünnter Salzsäure, die dieses Pepsinogen in Pepsin überführt. Etwas Aehnliches fanden Chapoteaut[4]) und Pódwissotzki[5])

Langley[6]) hat dann den bindenden Nachweis geführt, dass ein solches Zymogen thatsächlich existirt, und dass es in den Körnchen der Hauptzellen direct sichtbar ist; dass ferner die Magendrüsen während des Lebens kein Ferment, sondern nur das Zymogen enthalten. Beide unterscheiden sich wesentlich in ihrem Verhalten gegen verdünnte Alkalien und Kohlensäure: verdünnte Säuren und Einleiten von Kohlensäure führen das Pepsinogen sehr schnell in Pepsin über.

Béchamps[7]) sieht in diesen Körnchen seine merkwürdigen „Mikrozymata“, die er für organisirte Gebilde hält und wegen derer auf seine Originalarbeiten werwiesen werden muss.

Langley und Edkins[8]) haben dann später eine Methode zur Trennung von Pepsin und Pepsinogen angegeben. Pepsin wird nämlich

1) Roth, Z. f. klin. Med. 39. 1 (1900).
2) Gmelin, Pflüg. Arch. 90. 591 (1902).
3) Ebstein u. Grützner, Pflüg. Arch. VIII. 127. 617 (1874).
4) Chapoteaut, C. R. 94. 1722 (1882).
5) Pódwissotzki, Pflüg. Arch. 39. 62.
6) Langley, Journ. of physiol. III. 269 (1881).
7) Béchamps, C. R. 94 (1882). 582, 879, 970.
8) Langley u. Edkins, Journ. of physiol. VII. 371. (1886).

von 0,5—1 proc. Sodalösung schnell zerstört, während das Propepsin dagegen resistent ist.

Eine genauere Untersuchung des Propepsins ist dann in jüngster Zeit von Glaessner[1]) ausgeführt worden. Er stellte es durch 3 bis 4 wöchentliches Digeriren von Schweinemagenschleimhaut mit schwacher Sodalösung her. Den grössten Theil der beigemengten Eiweissstoffe konnte er durch Kochsalz und Essigsäure ausfällen; dann wurde das Propepsin mit dem Prochymosin (s. b. Lab) durch Uranylacetat bei sehr schwach alkalischer Reaction gefällt. Nach nochmaligem Umfällen gab das Product keine Eiweissreactionen mehr, zeigte jedoch beträchtlichen Stickstoffgehalt. Die Trennung vom Prochymosin gelang durch Fällung mit Uranylacetat und Natriumphosphat, wodurch nur das Prochymosin gefällt wird. Das Propepsin wird bei 60—70° unwirksam; die Temperatur wirkt um so intensiver, je alkalischer das Medium und je weniger Eiweiss darin ist.

Vorkommen des Pepsins. Pepsine finden sich im Magen fast aller Wirbelthiere; Von den Hausthieren ist der Schweinemagen am pepsinreichsten (Petit[2])). Ueber die Verdauung der Fische liegen Untersuchungen von Krukenberg[3]) und Richet[4]) vor. Krukenberg fand im oberen Darmabschnitt mehr Pepsin, im unteren mehr trypsinähnliche Absonderungen. Blanchard[5]) und Stirling[6]) fanden in den Pylorusanhängen der Fische Fermente, die sowohl bei schwach saurer wie bei schwach alkalischer Lösung wirken, die also vielleicht mit dem Pseudopepsin Glaessner's identisch sind. Im Schlunde und der Leber von Petromyces fand Miss Alcock Pepsin (cit. nach Green, p. 180). Die Magenverdauung der Haifische ist von Weinland[7]) genau untersucht worden. Er fand in ihrem Magensaft ein dem Pseudopepsin ähnliches Ferment.

Bei einigen Pflanzenfressern, z. B. dem Kaninchen, findet es sich schon im Fötalleben, bei Fleischfressern dagegen fehlt es bei der Geburt.

Bei Wirbellosen fand man ebenfalls pepsinähnliche Enzyme. Basch[8]) hat ein ganz ähnlich wirkendes Product in den Speicheldrüsen [illegible] gewöhnlichen Küchenschabe, Blatta orientalis, gefunden.

[illegible]aessner, Hofmeister's Beitr. I. 1 (1901)
[illegible] Maly's Jb. X. 308.
[illegible]berg. Unters. a. d. physiol. Inst. Heidelberg 1882. II. S. 385.
[illegible] Archives de physiol. X (1882). S. 536.
[illegible] Bull. soc. Zool. VIII (1883), cit. n. Weinland.
[illegible] anat. and phys. XVIII. 426 (1884).
[illegible] Biol. 41. 35 (1901).
[illegible] Acad. 33 (1858). Math.-Nat. Kl. 255.

Krukenberg[1]) hat zahlreiche Avertebraten der verschiedenen Klassen in Bezug auf Verdauungsenzyme untersucht. Er vermisste sie völlig nur bei Coelenteraten, fand sie sonst meist (Zusammenfassung l. c. S. 363).

Ueber die Verdauung der Insecten haben besonders Plateau, Frenzel, Jousset de Bellesme, Bouchardat[2]), Hayer[3]) gearbeitet. Eine genaue Untersuchung über die Verdauungsenzyme von Tenebrio molitor (Mehlwurm) hat Biedermann[4]) angestellt.

Fermente bei Echinodermen haben Chapeaux[5]), Griffiths[6]) beschrieben. Cohnheim[7]) hat die Verdauung dieser Thiere genauer untersucht. Er findet bei Holothurien zwar Diastase und Invertase, aber kein proteolytisches Ferment, auch keine Autolyse des Verdauungsapparates. Die Holothurien greifen Eiweissstoffe garnicht an, wie sie stickstoffhaltige Nahrung aufnehmen, bleibt dunkel. Seesterne haben proteolytisches Ferment.

Bei Actinien fand Mesnil[8]) in den zerriebenen Mesenterialanhängen proteolytische und andere Fermente. Während des Lebens soll aber die Verdauung ausschliesslich intracellulär geschehen.

Fermi und Repetto[9]) haben die ganze Thierreihe nach proteolytischen Fermenten durchsucht und sie weit verbreitet gefunden. Interessant ist das Fehlen bei parasitischen Würmern.

Ausserhalb des Magens haben Pepsin nachweisen können in den Brunner'schen Drüsen Grützner[10]), und Glaessner[11]), der es allerdings für Pseudopepsin erklärt; Kutscher[12]) fand im Darmsaft ein schwaches proteolytisches Enzym. Man fand es ferner im Harn: Brücke[13]), Poehl[14]), der es nur im schleimhaltigen Harn fand, Ta-

1) Krukenberg, Unters. a. d. physiol. Inst. Heidelberg. Bd. II. S. 1. 37, 261, 338, 366, 402.
2) Biedermann, Pflüg. Arch. 72. 105 (1898), dort die Citate.
3) Hayer, cit. n. Z. phys. Ch. II. S. 208.
4) Biedermann, Pflüg. Arch. 72. 105 (1898).
5) Chapeaux, Bull. acad. belg. (3) 26. 227 (1893).
6) Griffiths, Proc. Roy. Soc. 44. 325 (1888).
7) Cohnheim, Z. phys. Ch. 33. 9 (1901).
8) Mesnil, Ann. Past. XV. 353 (1901).
9) Fermi u. Repetto, C. f. Bact. 31. 403 (1902).
10) Grützner, Pflüg. Arch. XII. S. 288 (1872).
11) Glaessner, Hofmeister's Beitr, I. 105 (1901).
12) Kutscher u. Seemann, Z. phys. Ch. 35. 432 (1902).
13) Brücke, Vorlesg. üb. Physiol. 1874. Bd. I. S. 295.
14) Poehl, Ueb. das Vork. u. d. Bildg. des Peptons ausserhalb des Verdauungsapparats etc. Diss. Dorpat 1882. Biol. Centralbl. III. 252. s. a. Chem. Ber. XIV. 1355.

sulli[1]), Grützner[2]), Sahli[3]), Gehrig[4]), Stadelmann[5]), Hoffmann[6]), Bendersky[7]), in pathologischen Harnen Mya und Belfanti[8]); Friedberger[9]), der eine Parallelität zwischen der Secretion im Magen und der Grösse der Ausscheidung im Harn fand, dell' Isola[10]), der ihr Verschwinden bei schweren nervösen Erregungszuständen behauptet, ferner in den Muskeln (Brücke), im Speichel (Munk[11])) u. s. w.

Bei Erkrankungen des Digestionstractus soll es im Harn fehlen (Leo[12])). Im Schweiss fand es Bendersky[7]) neben Diastase, Trypsin soll fehlen. In den Faeces findet sich proteolytisches Ferment bei Carnivoren und Omnivoren, sowie Vögeln, nicht bei Pflanzenfressern (Fermi und Repetto l. c.).

Proteolytische Fermente kommen ferner in vielen Organen vor, sie bedingen die sog. Autolyse. Wir werden sie unten im Zusammenhang besprechen.

Eigenschaften des Pepsins. Die verschiedenen Präparate, die unter dem Namen „Pepsin" in den Handel kommen, sind je nach ihrer Provenienz und Darstellung sowohl in ihren Eigenschaften, wie in ihrer Wirksamkeit verschieden.

Konowaloff[13]) hat die verschiedenen Handelspepsine auf ihre Wirksamkeit im Vergleich zu reinem Hundemagensaft geprüft. Eine weitere Untersuchung der Handelspepsine (28) ist von Venturini und Cotta[14]) angestellt worden.

Doch hat es den Anschein, als ob die Fermente, abgesehen von dem Grade ihrer Reinheit, nicht nur bei verschiedenen Thierpecies, sondern auch bei demselben Thiere sich verschieden verhalten, namentlich auch ihre Wirksamkeit in verschiedenen Säuren. Am wirksamsten

1) Tasulli, Maly's Jb. 1894. S. 289.
2) Grützner, Breslauer ärztl. Ztschr. 1882. 17.
3) Sahli, Pflüg. Arch. 36. 209 (1885).
4) Gehrig, Pflüg. Arch. 38. 35 (1886).
5) Stadelmann, Z. f. Biol. 24. 266.
6) Hoffmann, Pflüg. Arch. **41.** 148.
7) Bendersky, Virch. Arch. **121.** 554.
8) Mya und Belfanti, Gazeta degli Ospitali. 1836. S. 3, cit. n. **Centralbl.** f. kl. Medicin. 1886. 449. 729.
9) Friedberger, Ueb. d. Pepsingeh. d. Harns etc. Diss. Giessen 1899. **Maly's** Jb. 1900. 335.
10) dell' Isola, Il Morgagni 1901. Dec, ref. Münch. Med. Woch. **1902. 717.**
11) Munk, Verh. d. physiol. Ges. Berlin. 24. Nov. 1876.
12) Leo, Pflüg. Arch. 37. 223 (1885).
13) Konowaloff, Maly's Jb. 1894. S. 289; nach einer Diss. Petersburg **1893.**
14) Venturini u. Cotta, Bollet. Chim. Farm. 39; Chem. Centralbl. **1900.** I. S. 619.

ist das Pepsin des Hundes (Klug[1]), Wróblewski[2])). Ferner giebt Fick[3]) nach Versuchen von Murisier an, dass das Pepsin des Frosches schon bei 0° wirksam ist, während das der Warmblüter unterhalb 10° keine Wirksamkeit entfaltet. Nach neueren Versuchen von Klug ist jedoch auch Warmblüterpepsin noch bei 0°, wenn auch schwach, wirksam.

Das Pepsin, das, wie oben erwähnt, in reinem Zustande noch nicht sicher bekannt ist, ist ein hochmolecularer, den Eiweissstoffen nahestehender Körper (s. o.).

Es zeigt im Uebrigen die gewöhnlichen Eigenschaften eines Enzyms. In seinem bisher reinsten Zustande stellt es eine weisse, oder leicht gelbliche amorphe Masse dar. Es ist löslich in Wasser, verdünnten Salzlösungen, verdünnten Säuren und Glycerin; wird aus seinen Lösungen durch einen Ueberschuss von Alkohol gefällt.

Eine Lösung von Brücke's Pepsin (s. o.) giebt keine Fällung mit den üblichen Eiweissreagentien, wie Platinchlorid, Quecksilberchlorid, Gerbsäure, Salpetersäure, dagegen mit neutralem und basischem Bleiacetat. Sie giebt eine schwache Xanthoproteïnreaction. Auch Sundberg[4]) konnte in seinem Pepsinpräparat keine Eiweissreactionen mehr auffinden, vgl. indessen Pekelharing (s. o.).

Erwärmen seiner Lösung auf 55—57° vernichtet die Wirksamkeit, wie bei allen Enzymen, s. u. a. A. Mayer[5]); Salzsäure, gewisse Salze, sowie Peptone verschieben den Zersetzungspunkt nach oben.[6]) In trockenem Zustande verträgt es Erhitzen auf 100°.

Es ist absolut nicht diffusibel durch Pergamentpapier (Hammarsten[7]), Wolffhügel[8])), dagegen durch Papier de la Rue (Fermi und Pernossi[9])).

Wie die meisten Enzyme wird es durch manche ausfallende Niederschläge, besonders von Eiweissfällungen, aber auch z. B. durch phosphorsauren Kalk mitgerissen (Brücke[10])), ferner durch Kohle, Ziegelsteinpulver, Cholesterin, Magnesiumcarbonat.

---

1) Klug, Pflüg. Arch. 60. S. 43 (1895).
2) Wróblewski, Z. phys. Ch. 21. 1 (1895).
3) Fick, Verh. d. Würzb. Phys.-med. Ges. 1873. S. 121.
4) Sundberg, Z. phys. Ch. IX. 319 (1885).
5) Mayer, Z. f. Biol. XVII. 351 (1881).
6) Biernacki, Z. f. Biol. 28. 49 (1891).
7) Hammarsten, Maly's Jb. III. 160.
8) Wolffhügel, Pflüg. Arch. VII. 188.
9) Fermi u. Pernossi, Z. f. Hyg. XVIII. S. 105. 111.
10) Brücke, Vorlesg. üb. Physiol. 1874. I. S. 294.

Es bindet sich mit Salzsäure zu einer lockeren Verbindung (v. Wittich[1]).

Ebenso wird es von Fibrin gebunden, so dass es aus diesem durch Glycerin nicht wieder extrahirt werden kann (v. Wittich, Ebstein und Grützner[2]). Diese leichte Bindung wurde dazu benutzt, um sehr geringe Pepsinmengen, z. B. im Harn, nachzuweisen.

Gegen Alkalien ist Pepsin sehr empfindlich. Herzen[3]) giebt an, dass Alkalien es unwirksam machen, aber Kohlensäure die Wirksamkeit wieder herstellt, was indessen von Fermi und Pernossi (l. c.) geleugnet wird. Nach Kühne[4]) und Langley[5]) wird durch eine 0,5 bis 1 proc. Sodalösung Pepsin sehr schnell zerstört, während das Pepsinogen ziemlich beständig dagegen ist, oder besser gesagt, viel langsamer vernichtet wird. Nach Shokiri-Nagayo[6]) ist besonders freies Alkali schädlich. Coagulirte Eiweissstoffe sollen schützend wirken. Trypsin greift nach Kühne[7]) in neutraler Lösung das Pepsin nicht an. Langley[8]) findet, dass Trypsin die Zerstörung des Pepsins durch Alkalien beschleunigt; es wirkt auch auf Zymogen; ähnlich äussert sich auch Mees[9]). Das Pepsin des Frosches ist widerstandsfähiger. Durch Anwesenheit von Eiweissstoffen wird die Vernichtung des Pepsins verzögert. Auch durch Kohlensäure wird es allmählich zerstört.

Ein Antipepsin ist von Sachs[10]) dargestellt worden. Er konnte Gänse gegen Pepsin immunisiren, und das Serum dieser Thiere zeigte eine deutliche antipeptische Wirkung, die bis gegen die 20fache Menge Pepsin schützte.

Eigenschaften des Propepsins. Nach Glaessner (l. c.) theilt das Propepsin viele Eigenschaften mit dem Pepsin, nur ist es im Allgemeinen etwas resistenter.

Es wird mitgerissen u. a. von Kieselguhr, Schwerspath, Marmor, Thierkohle, Lycopodium, Calciumsulfat, Calciumphosphat, nicht durch Glaspulver, Quarzsand, Thon, Stärke.

Es bindet sich an Fibrin.

1) v. Wittich, Pflüg. Arch. V. 203.
2) l. c.
3) Herzen, Annali di chim. e farm. VIII. 304 (1888).
4) Kühne, Verh. naturh. med. V. Heidelberg 1877. S. 193.
5) Langley, Journ. of phys. III. 246.
6) Shokiri-Nagayo, Üb. d. Einw. v. Caust. Alkali a. Pepsin. Diss. Würzburg Maly's Jb. 30. 379 (1900).
7) Kühne, l. c.
8) Langley, l. c.
9) Mees. Maly's Jb. 1885. 269.
10) Sachs. Fortschr. d. Med. 20. 425 (1902). S.-A.

Es ist indiffusibel durch Pergament und Schilfschläuche, wenig durch Porzellan und Thon. Zerstört wird es schnell durch freies Alkali, nicht durch schwache Soda.

Schädlich wirken ferner: Alkohol in grosser Verdünnung, Formaldehyd bei mehr als 1%, Sublimat (0,1%), Phenol (1%), Chlor, Brom, Jod, Trypsin, Papayotin, Galle, Dünndarmauszug.

Unschädlich sind: Aether, Aceton, Toluol, Chloroform, Benzaldehyd, Hydroperoxyd, Kohlendioxyd, Kochsalz in 1 proc. Lösung.

Durch schwache Säuren geht es in Pepsin über, und zwar wirkt HCl am schnellsten, Essigsäure und Milchsäure am schwächsten; 1% Kochsalz bewirkt keine Activirung.

Die Wirkung des Pepsins.

I. Methoden zur Erkennung und Bestimmung der Wirksamkeit.

Zur Erkennung des Pepsins haben wir kein anderes Mittel als die Prüfung seiner Wirksamkeit auf Eiweisskörper. Man lässt verdünnte Pepsinlösung in 0,1—0,2 procentiger Salzsäure auf Fibrin oder Hühnereiweiss einwirken und constatirt dann Arrosion (Andauung) des Eiweisses resp. Auflösung, und weist eventuell im Filtrat die Spaltproducte nach.

Um die Wirksamkeit des Pepsins quantitativ zu ermessen, wägt man entweder nach bestimmter Einwirkungsdauer die Menge des unverdauten Eiweiss zurück (Bidder und Schmidt[1]) oder man bedient sich der Methode von Grünhagen[2]. Dieser liess Fibrin sich mit Pepsinsalzsäure vollsaugen und brachte die Masse auf ein Filter. In dem Maasse, wie sich das Fibrin verflüssigt, fallen unten die Tropfen aus dem Trichter und die Zahl der in bestimmter Zeit fallenden Tropfen giebt ein Maass für die Pepsinwirkung.

Eine geistvolle Modification dieser Methode, die sie namentlich zur Demonstration für die Vorlesung geeignet macht, gab Grützner[3] an. Er färbt das auf das Filter zu bringende Fibrin vorher mit Carmin so dass dann die durchlaufende Flüssigkeit, da das Pepsin mit dem Fibrin den rothen Farbstoff zur Lösung bringt, sich röthlich färbt. Die Brauchbarkeit dieser Methode zu quantitativen Zwecken wird von Klug[4] bestritten, der dafür eine spectrophotometrische Prüfung der

1) s. Ebstein u. Grützner, Pflüg. Arch. VI. S. 1.
2) Grünhagen, Pflüg. Arch. V. S. 203.
3) Grützner, Pflüg. Arch. VIII. 452.
4) Klug, Pflüg. Arch. 60. S. 43.

Intensität der Biuretreaction vorschlägt. Schütz[1]) bestimmt die Peptone polarimetrisch, Schiff[2]) durch das specifische Gewicht ihrer Lösungen.

Mett[3]) bringt kleine, mit coagulirtem Eiweiss gefüllte, 1—2 mm dicke Glasröhrchen in die zu untersuchende Flüssigkeit, lässt 10 Stunden im Brutofen stehen und misst die Länge des verbrauchten Eiweisscylinders. Die Methode wird von Pawlow[4]) sehr warm empfohlen, von Huppert und Schütz (s. u.) dagegen verworfen.

Spriggs[5]) versucht, die Aenderung der Viscosität der Eiweisslösungen als Maassstab zu benützen, indem er mit Hilfe des Ostwaldschen Viscosimeters arbeitet.

Das Zeitgesetz des Pepsins. Wie E. Schütz[6]) fand und Borissow bestätigt hat (cit. n. Pawlow l. c.), folgt die peptische Verdauung einer bestimmten Regel: Die Verdauungsgeschwindigkeit (d. h. die verdauende Kraft) ist nämlich proportional der Quadratwurzel aus den Fermentmengen. J. Schütz[7]) hat diese Regel für nicht sehr concentrirte Pepsinlösungen durch sorgfältige Bestimmung der Zunahme des nicht coagulablen Stickstoffes bestätigt.

Dieselbe Regel gilt auch für das Trypsin (Pawlow S. 33) und die Pancreasdiastase.

Eine Erweiterung des Zeitgesetzes für die Wirkung des Pepsins geben die Versuche von Huppert und Schütz[8]). Indem sie die Menge der gebildeten secundären Albumosen als Massstab der Verdauung annehmen, finden sie, dass das Zeitgesetz des Pepsins sich derart formuliren lässt, dass die Reactionsgeschwindigkeit direct proportional ist der angewendeten Menge Eiweiss (Ovalbumin) und ferner proportional der Quadratwurzel aus der Zeit, der Pepsinmenge und der Säureconcentration, falls diese 0,2% nicht übersteigt. Ihre Formel heisst also: $S = k A \sqrt{t p s}$. (S ist die Menge der gebildeten secundären Albumosen, k die Geschwindigkeitsconstante, die von der Temperatur, der Art des Pepsins etc. abhängig ist, t die Zeit, p die Fermentmenge, s die Säureconcentration). Indessen gelten diese Gesetzmässigkeiten nur für nicht sehr concentrirte Fermentlösungen und homogene Systeme (gelöste Eiweisskörper), nicht aber z. B. für die

1) E. Schütz, Z. phys. Ch. IX. 577.
2) Schiff, Leç. de physiol. de la digestion. Berlin 1867. I. 402.
3) Mett, Dubois Arch. f. Physiol. 1894. 68.
4) Pawlow, Arb. d. Verdauungsdrüsen l. c. S. 32.
5) Spriggs, J. of phys. 28. V (1902).
6) E. Schütz, l. c.
7) J. Schütz, Z. phys. Ch. 30. 1 (1900).
8) Huppert u. Schütz, Pflüg. Arch. 80. 470 (1900).

Mett'sche Methode an coagulirtem Eiweiss. Bei diesen fanden sie eher eine annähernde Proportionalität direct zu der Fermentmenge.

II. Beeinflussung durch äussere Factoren.

Die Angaben über das Verhältniss der Temperatur zur Wirksamkeit schwanken; doch wird allgemein 40° als das Optimum angenommen, über 50° nimmt die Wirksamkeit schnell ab. Es wirkt in allen Säuren, doch muss der Concentrationsgrad desselben verschieden sein, um gleiche Wirkungen herbeizuführen (Davidson und Dietrich[1]). Die wirksamste Säure soll Oxalsäure sein (Wróblewski[2]), doch sind die Angaben darüber ausserordentlich schwankend; fast jeder Untersucher findet eine andere Reihenfolge. Im Allgemeinen ist man darüber einig, dass Salzsäure (am besten 0,1 % nach Slis[3]) und Milchsäure gut, Essigsäure sehr schlecht brauchbar sind[4]; am schlechtesten ist Propionsäure nach Stutzer[5]), der dagegen Aepfelsäure und Ameisensäure sehr wirksam fand. Borsäure ist ohne Einfluss (Hehner[6]). Für Salzsäure ist die beste Concentration 0,2 % (Huppert und Schütz[7]).

Doch wirkt Pepsin noch bei ausserordentlich geringer Acidität. Zunz[8]) fand, dass Pepsin in Lösungen von Na_2HPO_4 die gegen Lakmus schwach alkalisch, gegen Phenolphthaleïn schwach sauer wirkten, Serumalbumin angreift, wenn auch langsam.

Hindernd auf die Pepsinverdauung wirken gewisse Salze, namentlich Kochsalz und Ammoniumsulfat (Grützner[9]), A. Schmidt[10]), Klug, (l. c.) Mann[11]); Chloroform (Bertels[12]) aber nur in grösseren Dosen, während kleine Mengen fördernd wirken (Dubs[13]). Aehnlich Alkohol, der in geringerer Concentration (bis 10 %) gleichgiltig ist, während in 20procentiger Lösung jede Verdauung aufhört. Dem

1) Davidson u. Dietrich, Müller-Reichert's Arch. f. Physiol. 1860. 690.
2) Wróblewski, Z. phys. Ch. 21. S. 1.
3) Slis, Maly's Jb. 1900. 377.
4) Man findet die Litteratur darüber, soweit sie hier nicht angegeben ist, bei Klug jun., Pflüg. Arch. 65. 330.
5) Stutzer, Landwirthsch. Versuchsstat. 38. 257 (1891); vgl. indessen Nékám, Maly's Jb. XX. S. 250, der das Gegentheil behauptet.
6) Hehner, Analyst. XVI. 126 (1891).
7) l. c.
8) Zunz, Hofmeister's Beitr. II. 471 (1902).
9) Grützner, Pflüg. Arch. XII. 280.
10) A. Schmidt, Pflüg. Arch. XIII. S. 93.
11) Mann, Diss. Erlangen 1897.
12) Bertels, Virch. Arch. 130. 497.
13) Dubs, Virch. Arch. 134. 519.

entgegen steht wieder die Angabe von Laborde[1]), dass Aethylalkohol die Pepsinwirkung hindert (in 2proc. Lösung), ebenso Propylalkohol, während Methyl- und Butylalkohol schwach fördern. Nach Thibault[2]) ist Alkohol bei 5 % schädlich, darunter nicht. Dagegen wirkt Bier schon unter 3 % alkoholischer Mischung stark hindernd, was nicht dem Hopfen zuzuschreiben ist, desgleichen Wein (Buchner[3])). Auch Kohlensäure wirkt hemmend (Schierbeck[4])), ebenso Kaffee- und Theeaufguss (Schultz-Schultzenstein[5]), Fraser[6])); doch wies Wróblewski[7]) nach, dass dies nur auf Rechnung der Gerbsäuren kommt, während Coffeïn und Theobromin im Gegentheil fördernd wirken; dagegen fand er Alkaloïde zum Theil stark hemmend, besonders Veratrin, Morphin, salzsaures Narceïn. Fördernd fand ferner Mann schwache Salzlösungen, Kohlensäure und besonders Gewürze, wie Pfeffer etc., stark hemmend Tabakssaft.

Das Sacharin soll nach vielen Autoren (z. B. Stutzer[8]), hemmend wirken, doch fand Schmitt[9]) seine Wirkung nicht grösser als die von Zucker und Alkohol.

Chittenden[10]) hat für zahlreiche Substanzen nachgewiesen, dass sie in kleinen Dosen fördernd, in grösseren hemmend wirken, z. B. arsenige und Arsensäure, Chloride und Bromide, Paraldehyd und Thallinsulfat. Antipyrin und Antifebrin wirken schwach hemmend, Chinin dagegen fördernd (Wolberg[11])). Jodkalium ist schädlich (Fabini und Fiori[12])). Formaldehyd wird bis zu 5 % vertragen (Bliss und Novy[13])). Rohrzucker in hohen Concentrationen (40 %) wirkt schädlich (Buchner[14])). Auch Rhodankalium hemmt die Pepsinverdauung des Fibrins, doch hat Wróblewski[15]) dafür nicht

---

1) Laborde, Soc. Biol. 51. 821 (1899).
2) Thibault, Prepar. officin. de pepsine. Thèse de Paris 1902.
3) Buchner, Arch. f. klin. Med. 29. 537.
4) Schierbeck, Scand. Arch. f. Phys. III. 357.
5) Schultz-Schultzenstein, Z. phys. Ch. XVIII. 131 (1894).
6) Fraser, Journ. of anat. and phys. 31. 469.
7) Wróblewski, Z. phys. Ch. 21. S. 1 (1895/96).
8) Stutzer, Landwirthsch. Versuchsst. 38. 63 (1891).
9) Schmitt, Soc. Biol. 53. 373 (1901).
10) Chittenden, Maly's Jb. XV. 277. XX. 248.
11) Wolberg, Pflüg. Arch. 22. 291 (1880).
12) Fabini und Fiori, Moleschott's Unters. XII. 462, cit. n. Hahn u. Geret, Bd. 40. 145 (1900).
13) Bliss und Novy, Journ. of exper. med. IV. 47 (1899).
14) Buchner, Chem. Ber. 30. 1110 (1897).
15) Wróblewski, Chem. Ber. 28. 1719 (1895).

eine Schädigung des Fermentes, sondern die Schrumpfung des Fibrins unter dem Einfluss der Sulfocyanverbindung verantwortlich gemacht.

Eine Untersuchung über den Einfluss einer grossen Anzahl von chemischen Agentien, sowie des Sonnenlichtes haben Fermi und Pernossi[1]) angestellt. An dieser Stelle können nicht alle Einzelheiten der umfangreichen Arbeit angeführt werden. Nach Nirenstein und Schiff[2]) wirken die normalen Substanzen des Mageninhalts derartig hindernd auf die Pepsinverdauung, dass ohne besondere Vorsichtsmassregeln das Mett'sche Verfahren stets zu niedere Werthe liefert. Es sind namentlich Kochsalz und Kohlehydrate. Eine Verdünnung mit 0,18 %iger HCl auf das 16fache schützt vor diesen Fehlern. Ueber vergleichende Pepsinbestimmungen nach verschiedenen Methoden im gesunden und pathologischen Magensaft haben ferner Schorlemmer[3]) und Jung[4]) berichtet.

Die Thatsache, dass Pepsin in neutraler Lösung auf Eiweissstoffe keine Wirkung entfaltet, sondern nur in saurer, und zwar, wie man zuerst annahm, salzsaurer resp. milchsaurer Lösung wirkt, führte C. Schmidt[5]) zu der Anschauung, dass sich das Pepsin zunächst mit der Salzsäure zu einer lockeren Verbindung, einer Pepsinsalzsäure binde, und dass dieser Akt die Verdauung einleite. Als man aber später (s. o.) zeigen konnte, dass Pepsin in allen Säuren wirkt, da wäre es eine einfache Consequenz der Schmidt'schen Theorie gewesen, wenn nunmehr die anderen Säuren in einem Concentrationsgrad am wirksamsten gewesen wären, der gerade ebenfalls für eine Pepsinsäureverbindung geeignet gewesen wäre, d. h. in aequimolecularen Mengen. Das ist aber nach Davidson und Dieterich[6]) durchaus nicht der Fall. Es lässt sich vielmehr keine Gesetzmässigkeit in den wirksamsten Concentrationsgraden feststellen. Sie selbst (l. c. S. 701) stellen an der Stelle der Schmidt'schen Theorie eine andere auf:

Nur diejenigen Stoffe machen das Pepsin fähig, die Eiweissstoffe zu spalten, welche diese vorher zum Quellen bringen. Dies thun nun alle Säuren, aber für jede ist ein bestimmter Concentrationsgrad das Optimum, oberhalb und unterhalb desselben nimmt die Fähigkeit ab, bis sie schliesslich, und damit die Pepsinwirkung, gleich Null wird. Ammoniak wirkt zwar ebenfalls sehr energisch auf Eiweisskörper quellend, zerstört indessen das Pepsin, so dass damit ein Vergleich nicht gezogen werden kann.

Andererseits scheint nach den Versuchen von Huppert und Schütz (l. c), die vorherige Umwandlung von genuinem Eiweiss in Acidalbumin, die durch die Säuren bewirkt wird, von grosser Bedeutung zu sein, insofern als das genuine Eiweiss ohne diese Umwandlung nur schwer angegriffen

1) Fermi und Pernossi, Ztsch. f. Hygiene. XVIII. S. 83 ff.
2) Nirenstein und Schiff, Arch. f. Verdauungskrankh. VIII. 559 (1902).
3) Schorlemmer, Arch. f. Verdauungskrankh. VIII. (1902).
4) Jung, Arch. f. Verdauungskrankh. VIII. 605 (1903). S. A.
5) C. Schmidt, Liebig's Ann. 61. S. 311.
6) Davidson u. Dieterich, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1860. S. 690.

wird. Doch widerspricht dem wieder Zunz[1]), der eine vorherige Umwandlung in Acidalbumin nicht für unbedingt nothwendig erklärt.

Für den physiologischen Ablauf der Pepsinverdauung sind auch die Aminosäuren des Magens wegen ihrer salzsäurebindenden Kraft nicht ohne Bedeutung. Hoffmann[2]) fand, dass Glycocoll die Pepsinverdauung hemmt. Rosenheim[3]) giebt dasselbe vom Leucin an. Salkowski[4]) hat dann die Frage ausführlich behandelt und den Einfluss der Aminosäuren als nicht gerade wesentlich hingestellt.

Mit dieser Frage scheint es indessen zusammenzuhängen, dass die Pepsinwirkung schliesslich erlischt.

Zwar scheinen die aufgehäuften Spaltproducte, z. B. Albumosen etc., auch direct das Pepsin zu beeinträchtigen (s. z. B. Pupo)[5]), vor Allem liegt es aber daran, dass die Salzsäure verschwindet. Wie Gürber[6]) nachwies, kann man die sistirte Verdauung wieder in Gang setzen, wenn man dem Gemisch ein paar Tropfen Salzsäure zusetzt. Beim Stillstand der Pepsinwirkung ist thatsächlich freie Salzsäure (durch Günzburg'sches Reagens oder durch ihre invertirende Kraft erkennbar) nicht mehr vorhanden. Gürber nimmt an, dass sie an die Spaltproducte gebunden wird, und zwar seiner Meinung nach auf 5 Atome Eiweissstickstoff 1 Mol. Salzsäure. Wenn auch diese Speculation etwas gewagt erscheint, auch die übrigen quantitativen Beziehungen, dass nämlich Deuteroalbumose mehr HCl als Protalbumose, Peptone aber wieder weniger binden sollen, ohne überzeugende Kraft sein müssen, so scheint doch die Thatsache der Bindung von HCl an albuminoide Stoffe sichergestellt[7]). Indirect beeinflussen also die aufgehäuften Spaltproducte, wenn nicht das Ferment, doch jedenfalls die Fermentation.

Die Stoffe, welche durch Pepsin angegriffen werden, sind sämmtliche genuinen Eiweisskörper, gelöste und coagulirte gleichmässig[8]), und die Nucleoalbumine, z. B. Caseïn, ferner die Nucleoproteïde, Collagen, Glutin, Chondrogen, Chondrin, Elastin, Oxyhämoglobin, nicht aber Ovomucoid, Mucin, Keratin, Chitin. Die nähere Besprechung, besonders der Spaltproducte, muss ich mir für später vorbehalten.

Die Geschwindigkeit, mit der die einzelnen Eiweissstoffe von Pepsin [illegible] verdaut werden, und die Beschaffenheit der entstehenden [illegible] bei den einzelnen Proteïden und verschiedenen Pepsinen

1) Hofmeisters Beitr. II. 435 (1902).
2) [illegible] Centralbl. f. klin. Med. 1891. 793.
3) [illegible] ebd. 1891. 729.
4) [illegible] Arch. 127. S. 501. C. med. W. 1891. 945.
5) [illegible] d. Album. Diss. Genf 1899. C. f. Phys. XIV. 442
6) [illegible] Würzb. Phys.-med. Soc. 1895. S. 67.
7) [illegible] der HCl im Magensaft s. b. Emerson.
[illegible]
8) [illegible] Phys.-med. Soc. 1872. S. 113.

verschieden.[1]) Caseïn soll am leichtesten gelöst werden. Der Werth dieser Arbeiten ist bei den stets discordanten Resultaten und der Verschiedenheit sowohl der Versuchsbedingungen wie der Erkennungsmethoden ein sehr geringer.

Eine für den Schutz des Organismus sehr wesentliche Function des Pepsins sieht Charrin[2]) in der Fähigkeit, Bacterientoxine unschädlich zu machen.

In der That zerstört das Pepsin alle Toxine, ausser Abrin (Nencki und Schoumow-Simanowski[3]), Carrière[4])). Doch sind andere Verdauungssäfte, namentlich die Galle viel wirksamer.[5])

Die Producte, welche durch die Pepsinverdauung entstehen. Der Vorgang der peptischen Spaltung ist unzweifelhaft ein Abbau höherer Molecularcomplexe zu niederen. Es entstehen aus den absolut indiffusiblen Eiweisssubstanzen schliesslich diffusible Stoffe, die Peptone und noch einfachere, krystalloide Körper. Dass diese Spaltung im Wesentlichen eine hydrolytische ist, lässt sich daraus erschliessen, dass der peptischen Verdauung analoge Producte beim Kochen von Eiweissstoffen mit verdünnten Säuren und Basen, sowie selbst durch überhitztes Wasser resp. Dampf entstehen.

Diesen Process im Einzelnen chemisch zu verfolgen ist vorläufig unmöglich, da uns nicht nur die Constitution der Eiweisskörper selbst, sondern auch die ihrer gewöhnlichen peptischen Abbauproducte völlig unbekannt ist. Wir müssen uns damit begnügen, mit Hilfe gewisser Fällungs- und Färbungsreactionen uns über die einzelnen Phasen des Processes im Ganzen zu orientiren, der, wie erwähnt, in einem allmählichen Abbau von den nichtdiffusiblen Eiweissstoffen zu den diffusiblen Peptonen führt. Dazwischen hat man eine Reihe noch wenig diffusibler, aber von den Eiweissstoffen schon verschiedener Stoffe, die man als Albumosen bezeichnet, aufgedeckt. Es würde weit über den Rahmen dieses Buches hinausgehen, wenn wir den ungemein zahlreichen und mühevollen Untersuchungen, die uns zu unserem heutigen Standpunkt geführt haben, im Einzelnen folgen wollten; nur das Wesentliche herausgreifend, können wir in grossen Zügen den Abbau der Eiweissstoffe nach modernen Anschauungen schildern.

---

1) s. u. A. Klug jun., Pflüg. Arch. 65. 330. (1897).

2) Charrin, Arch. de physiol. V. Sér. X. 65.

3) Nencki und Schoumow-Simanowski, Centralbl. f. Bact. 23. 840 (1898).

4) Carrière, Ann. Past. XIII. 435 (1899).

5) s. Oppenheimer, „Bakteriengifte" in Wassermann-Kolle: Handbuch d. pathog. Mikroorg. Jena 1902. I. S. 356.

Die ersten Entdeckungen auf diesem Gebiet sind von Meissner[1]) und seinen Schülern ausgegangen. Er unterschied mehrere „Peptone“. die zum Theil unseren jetzigen Albumosen, zum Theil den sogenannten „echten“ Peptonen, zum Theil dem Antialbumid Kühne's gleichzustellen sind. Weitere fundamentale Arbeiten lieferte Schützenberger[2]).

Die modernen Anschauungen beruhen im Wesentlichen auf den klassischen Arbeiten Kühne's und seiner Schüler. Kühne fand, dass bei der Pankreasverdauung (s. d.) stets rund die Hälfte des Eiweissmaterials in Form eines Peptons der weitergehenden Spaltung entgeht. der die andere Hälfte unterliegt. Genau so verhielt es sich, wenn er die gesammte Peptonmenge, die er aus Eiweissstoffen bei der Magenverdauung erhielt, und die er als Amphopepton bezeichnete, der Trypsinspaltung preisgab. Während die eine Hälfte, das sog. Hemipepton, durch Trypsin in der charakteristischen Weise zersetzt wurde. blieb die andere, das Antipepton, diesen Einflüssen gegenüber unverändert.

Kühne schloss daraus, dass sich im Eiweissmolecül zwei differente Gruppen befinden, die Hemi- und die Antigruppe, die nun gesondert abgebaut werden.

Aus der Antigruppe entsteht zunächst das Antialbumid (Meissner's Parapepton) bei unzureichender Pepsinmenge.

Löslich in Säuren, fällbar durch Alkalien. Kann auch durch Kochen von Eiweiss mit verdünnten Säuren erhalten werden; ist gegen Pepsin unempfindlich, wird durch Trypsin in Antipepton übergeführt.

Bei reichlicher Pepsinmenge entsteht hingegen kein Antialbumid, sondern zunächst Anti- und Hemialbumosen, dann Anti- und Hemipepton. Die Hemialbumose, die Kühne[3]) zuerst isolirte, erwies sich als ein Gemisch von verschiedenen, auch Antialbumosen.

Später gelang Kühne und Chittenden[4]) die Trennung der einzelnen Albumosen, die bei der Pepsinspaltung entstehen.

Der Verdauungssaft wird mit Natronlauge neutralisirt, der entstehende Niederschlag mit Kochsalz verrieben. Behandelt man ihn [illegible] concentrirter Kochsalzlösung, so geht ein Theil in Lösung, [illegible] als Deuteroalbumose bezeichnet. Diese wird aus der Koch[illegible] durch Essigsäure gefällt.

1) [illegible] Zeitschr. f. rat. Medic. (3. VII. 1. VIII. 280. XI, XIV. 303.
2) [illegible] Bull. de la soc. d. Paris. Bd. XXIII. 1. 161. 193.
3) [illegible] 143.
4) [illegible] XX. S. 209.
5) [illegible]ien. Z. f. Biol. XIX. S. 159; XX. S. 11.

Der Rückstand wird mit Wasser behandelt. Es geht bis auf einen geringen Rückstand, die Dysalbumose, alles in Lösung. Diese wird dialysirt. In Lösung bleibt die Protalbumose, während Heteroalbumose ausfällt. Ueber die systematische Stellung dieser verschiedenen Albumosen s. u.

Protalbumose ist löslich in Wasser, wird beim Kochen nicht coagulirt, ist unlöslich in concentrirter Kochsalzlösung. Salpetersäure giebt eine im Ueberschuss lösliche Fällung. Essigsäure und Ferrocyankalium geben einen Niederschlag, ebenso Kupfersulfat, Quecksilberchlorid, [illegible]. Sie ist auch in Alkohol löslich und kann dadurch von der Heteroalbumose getrennt werden (Pick[1]). Heteroalbumose ist unlöslich in Wasser, löslich in verdünnten Salzlösungen, Säuren und Alkalien. In Wasser suspendirt, coagulirt sie beim Sieden und wird unlöslich in Kochsalzlösung. Schwermetallsalze geben Fällung. Sehr interessant ist der Befund von Spiro[2], dass Heteroalbumose bei weiterer Spaltung vorwiegend Leucin und Glykokoll, die Protalbumose dagegen viel Tyrosin und wenig Glykokoll liefert, was auf einen tiefgreifenden Unterschied hindeutet. Deuteroalbumose ist löslich in gesättigter Kochsalzlösung und in destillirtem Wasser (Wenz[3]). Kupfersulfatlösung und Salpetersäure fällen nicht. Die Dysalbumose wird als eine Modification der Heteroalbumose angesehen, die in verdünnter Kochsalzlösung unlöslich geworden ist.

Gemeinschaftliche Reactionen der Albumosen sind:

Ammoniumsulfat fällt sie aus, doch ist der zur Fällung nöthige Sättigungsgrad sehr verschieden (s. u.).

Salpetersäure giebt eine in der Wärme lösliche Fällung, ebenso Essigsäure und Ferrocyankalium, doch sind hier kleine Unterschiede zu constatiren.

Kupfersulfat und Natronlauge geben ebenfalls nicht ganz identische, auch von der Ausführung abhängige rothe bis rothviolette Färbungen (Biuretreaction).

Sie sind linksdrehend.

Analoge Albumosen sind aus anderen Eiweisskörpern dargestellt worden: Globulosen aus Globulin (Kühne und Chittenden[4]), Chittenden und Hartwell[5]), Vitellosen aus Vitellin (Neumeister[6]), Chittenden und Mendel[7]), Myosinosen (Kühne und Chittenden[8]),

---

1) Pick, Z. phys. Ch. 28. 219 (1899).
2) Spiro, Z. phys. Ch. 28. 174 (1899).
3) Wenz, Z. f. Biol. XXII. 10 (1886).
4) Kühne u. Chittenden, Z. f. Biol. XXII. S. 409.
5) Chittenden u. Hartwell, Journ. of. Physiol. XI. 435 (1890).
6) Neumeister, Z. f. Biol. XXIII. S. 381.
7) Chittenden u. Mendel, Journ. of Physiol. XVII. 18 (1895).
8) Kühne u. Chittenden, Z. f. Biol. XXV. S. 358.

Chittenden und Goodwin[1])), die man ebenfalls mit Proto-, Deutero-etc. näher bezeichnet. Ueber die Spaltproducte der albuminoiden Stoffe s. u.

Neumeister[2]) hat aus den Kühne'schen Befunden und Anschauungen, sowie auf Grund eigener Arbeiten eine Theorie der peptischen Eiweissspaltung aufgebaut. Er nimmt an, dass es zwei Hauptarten von Albumosen giebt, solche, die noch den Eiweisskörpern näher stehen, „primäre" Albumosen, und solche, die den Peptonen näher stehen, „secundäre" Albumosen. Beide Gruppen leiten sich sowohl von der Hemi- als der Antigruppe des Eiweisskernes ab, jedoch so, dass die Protalbumose sich hauptsächlich von der Hemigruppe, die Heteroalbumose sich hauptsächlich von der Antigruppe ableitet, ohne dass jedoch die reciproken Gruppen gänzlich unbetheiligt sind. Beide liefern dann secundäre Albumosen, die man unter dem Namen Deuteroalbumose (Amphoalbumose) zusammenfasst, und dann Amphopepton, das bei der Heteroalbumose natürlich mehr Antipepton, bei der Protalbumose mehr Hemipepton enthalten muss.

Die ganze Lehre von den Albumosen und ihren Beziehungen zum Eiweissmolecül hat in jüngster Zeit mehrfache Modificationen und Anfechtungen erfahren.

E. P. Pick[3]) gelang es, durch partielle Sättigung mit Ammonsulfat aus dem „Witte"-Pepton nicht weniger als drei Deuteroalbumosen, A, B, C, und zwei Peptone zu erhalten, und seine Beobachtungen wurden von Umber[4]) und Alexander[5]) als für reine Eiweisskörper giltig bestätigt. E. Zunz[6]), der den Abbau verschiedener reiner Eiweissstoffe an der Hand der von Baumann und Bömer[7]) angegebenen Methode der Fällung mit Zinksulfat quantitativ untersuchte, ist sehr geneigt, auch die einheitliche Natur von Deuteroalbumose A und B in Zweifel zu ziehen, so dass dann fünf Deuteroalbumosen existirten. Zudem aber führt er den Nachweis, dass Deuteroalbumose A und vor allem B ebenso früh sich bilden, wie die sogen. „primären" Albumosen, also mit demselben Recht als solche bezeichnet werden müssten. Pick[8]) fand in den Deuteroalbumosen des Wittepeptons eine Thioalbumose (sehr schwefelreich, giebt Cysteïn) und eine Glyco-

1) Chittenden u. Goodwin, Journ. of Physiol. XII. S. 34.
2) Neumeister, s. u. A. Lehrb. d. phys. Ch. 1893. I.
3) Pick, Z. phys. Ch. 24. 246.
4) Umber, ibid. 25. 258 (1898).
5) Alexander, ibid. 25. 411 (1898).
6) E. Zunz, Z. phys. Ch. 27. 219. 28. 132.
7) Baumann u. Bömer, Z. f. Unters. v. Nahr.- und Genussm. Bd. I. S. 106 (1898).
8) Pick, Hofmeister's Beitr. II. 481 (1902).

albumose mit Kohlehydratrest, ferner ein „Peptomelanin" und noch 4 andere Albumosen, die zum Theil aromatische Gruppen enthalten. Das ganze Kühne'sche Schema ist also sehr angreifbar. Dazu kommt. dass nach Alexander[1]) Caseïn keine Protalbumose liefert, also der Hemigruppe entbehren müsste und doch bei der Pankreasverdauung gespalten wird. Kühne selbst[2]) hat ferner gefunden, dass die Deuteroalbumose schwerer diffundirt, als Protalbumose, was auch für ihre den genuinen Eiweisskörpern noch näher stehende Natur spricht. Besonders fraglich ist auch noch die Stellung des Acidalbumins, das sich als eines der ersten Producte der Spaltung nachweisen lässt. Während nämlich Zunz (l. c.) annimmt, dass es, wenn es überhaupt entsteht, gleichzeitig mit Albumosen aus dem Eiweissmolecül abgespalten wird, neigen Huppert und Schütz (l. c.) dazu, es als alleiniges primäres Spaltproduct anzusprechen, aus dem sich die andern erst bilden.

Ausserdem haben die neuesten Forschungen ergeben, dass bei langdauernder Pepsinwirkung alle noch colloiden, eiweissähnlichen Zwischenstufen ebenso restlos in einfachere Bruchstücke gespalten werden, wie durch Trypsin. Wir finden hier fast genau dieselben krystallinischen Spaltungsproducte, besonders Aminosäuren, wieder, worauf wir unten näher eingehen werden. Ein gegen Pepsin wirklich resistentes Amphopepton existirt also nicht, sondern alle diese Stoffe sind ausschliesslich intermediäre Producte, deren Beschaffenheit mit der Energie und Dauer der Pepsinwirkung schwankt.

Die Peptone. Sie galten nach den Annahmen Kühne's und seiner Schüler als die letzten Producte der peptischen Verdauung.

Sie unterscheiden sich von den Albumosen durch Nichtfällbarkeit mit Ammoniumsulfat in angesäuerter Lösung (Wenz[3])). Sie diffundiren viel leichter durch thierische Membranen und haben andere procentische Zusammensetzung, besonders niedrigeren Kohlenstoffgehalt. Entdeckt wurden sie von Meissner, wie oben erwähnt, der ihnen auch den Namen gab.

Darstellungsmethoden, die aber nicht zu albumosefreien Peptonen führen, sind von Henninger[5]) und Herth[5]) ausgegangen. Kühne[6]) hat mehrfach Methoden zur Erzielung reiner Peptone angegeben, die dann später durch Pick, Zunz[7]) u. A. genauer ausgearbeitet wurden.

1) Alexander, Z. phys. Ch. 25. 411 (1898).
2) Kühne, Z. f. Biol. 29. S. 20 (1893).
3) Wenz, Z. f. Biol. XXII. S. 10.
4) Henninger, Comptes rendus 86. 1413, 1464.
5) Herth, Z. phys. Ch. I. 277.
6) Kühne u. Chittenden, Z. f. Biol. XXII. 425. Kühne, ib. 29. S. 1.
7) l. c.

Die Peptone werden weder durch Kochen, noch durch Säuren, noch durch Essigsäure und Ferrocyankalium gefällt.

Sie fallen mit mehreren Schwermetallsalzen, Gerbsäure, vor allem mit Phosphorwolframsäure aus, die besonders zu ihrer Abscheidung benutzt wird. Sie geben die Millon'sche und die charakteristische rothe Biuretreaction mit Natronlauge und verdünntem Kupfersulfat. Sie sind linksdrehend.

Kühne und seine Schüler haben ihrer Grundanschauung folgend (s. o.) ein Hemipepton und ein Antipepton angenommen. Das letztere soll ein einheitlicher Körper sein und durch Trypsin nicht weiter verändert werden.

Durch neuere Untersuchungen von Kutscher[1]) ist es jedoch zur Evidenz erhoben, dass das Kühne'sche Antipepton als solches nicht, zum mindesten nicht in der angenommenen Menge (der Hälfte des Gesammtproductes) existirt, sondern ein Gemenge der verschiedenen, bei der Trypsinspaltung entstehenden Stoffe ist. Auch durch diese Befunde ist die ganze Anschauung von der Hemi- und Antigruppe im Eiweissmolecül in ihren Grundlagen erschüttert. Wir werden bei der Trypsinwirkung darauf zurückkommen.

Sonstige Producte der Pepsinspaltung. Schon Hoppe-Seyler[2]) hatte behauptet, dass bei der Pepsinwirkung noch andere, wahrscheinlich einfachere Stoffe, Leucin, Tyrosin etc., sowie Tryptophanreaction auftreten, was von Kühne bestritten wurde, der mit gereinigtem Pepsin niemals derartige Reactionen bemerkte. Dem gegenüber wandte Winternitz[3]) ein, dass durch die Reinigungsprocesse das Pepsin geschwächt würde. Chittenden und Hartwell[4]) erzielten keine vollständige Umwandlung der Eiweisskörper in Peptone. Auch die Befunde von Lawrow[5]) sprechen für die Annahme anderweitiger Abbauproducte, besonders aber die Arbeiten von E. Zunz.[6]) Er fand bei energischer Pepsinwirkung relativ wenig Peptone, aber beträchtliche Mengen von Ammoniak und stickstoffhaltigen Stoffen, die nicht durch Phosphorwolframsäure, wohl aber durch Gerbsäure fällbar waren und keine Biuretreaction gaben. Sie traten schon früh

1) Kutscher u. a., „Die Endproducte der Trypsinverdauung." Habilit.-Schrift. Strassburg 1899.

2) Hoppe-Seyler, Physiol. Chemie 1881. II. S. 228.

3) Winternitz, Z. phys. Ch. XVI. 464.

4) Chittenden u. Hartwell, Journ. of physiol. XII. S. 12 (1891).

5) Lawrow, Z. phys. Ch. 26. 513 (1898).

6) E. Zunz, Z. phys. Ch. 28. 172 (1899); ferner Hofmeister's Beitr. II. 435 (1902).

auf und gehören also zu den „primären“ Abbauproducten. Es sind Aminosäuren.

Nach Malfatti[1]) kann bei der Pepsinverdauung auch Tryptophan entstehen, doch geben nicht alle Präparate diese Reaction. Da andererseits Pfaundler[2]) auch bei intensivster Verdauung von Serumalbumin mit Pepsin niemals Tyrosin, Leucin etc. beobachten konnte, und ebenso wenig Glaessner[3]) mit seinem reinen Pepsin aus Propepsin, so nimmt letzterer die Existenz eines „Pseudopepsins“ im Magen an, dass diese weitergehenden Spaltungen auslöst (s. o.). Allerdings hatte Lawrow[4]) bei der Selbstverdauung von Schweinemagen Leucin, Aminovaleriansäure, Putrescin und Cadaverin gefunden, so dass hier das Pseudopepsin verantwortlich gemacht werden kann. Jedoch hat Salaskin[5]) aus einigen Proteiden Leucinimid, sowie Langstein[6]) bei sehr langdauernder Einwirkung von Pepsin-Grübler eine ganze Reihe von krystallisirten Spaltproducten gewonnen (aus Pferdeblutserum). Er fand folgende Producte: Asparaginsäure, Glutaminsäure, Tyrosin, Leucin, Oxyphenyläthylamin, ferner einen Skatol und einen Pyridin abspaltenden Stoff, eine Kohlehydratsäure, ein Dihexosamin und eine Säure, die nur noch die Biuretreaction gab; ausserdem einen schwefelhaltigen und einen basischen Stoff mit reichem Stickstoffgehalt, keine Tryptophanreaction. Später stellte er aus krystallisirtem Ovalbumin dar: Lysin, Cadaverin, Oxyphenyläthylamin, ferner mit Hilfe der Fischer'schen Estermethode[7]) Leucin, Asparaginsäure, Phenylalanin, Tyrosin, Cystin, sowie wieder die Skatol gebende Substanz, die Säure, vielmehr zwei Säuren, die nur die Biuretreaction gaben, und ein stickstoffhaltiges Kohlehydrat. (Näheres über diese Stoffe s. b. Trypsin.)

Pepsinspaltung der phosphorhaltigen Eiweissstoffe. Aus Caseïn hat zuerst Thierfelder[8]) mehrere „Propeptone“ und ein Pepton erhalten.

Caseïnalbumosen, Caseosen sind dann von Chittenden und Painter[9]) beschrieben worden.

---

1) **Malfatti**, Z. phys. Ch. **31.** 43 (1900).
2) **Pfaundler**, Z. phys. Ch. 30. 90 (1900) (ält. Litteratur).
3) **Glaessner**, Hofmeister's Beitr. I. 24 (1901).
4) **Lawrow**, Z. phys. Ch. **33.** 312 (1901).
5) **Salaskin**, Z. phys. Ch. **32.** 592 (1901).
6) **Langstein**, Hofmeister's Beitr. I. 507 (1901); II. 229 (1902).
7) **E. Fischer**, Z. phys. Ch. **33.** 151 (1901).
8) **Thierfelder**, Z. phys. Ch. X. 577.
9) **Chittenden** u. **Painter**, Studies from the Laboratory of Physiol. Chem. of Yale College. II. 1885—86. S. 156; III. 66 (Maly's Jb. XVII. S. 16; XX, S. 17).

Sebelien[1]) hat dann weiterhin Albumosen und (optisch inactive [?]) Peptone aus Caseïn gewonnen, desgl. Salkowski[2]). Dann hat Alexander[3]) die Frage mit Hilfe der Pick'schen Methode (s. o.) nochmals aufgerollt und den Pick'schen Albumosen entsprechende Körper dargestellt. Heteroalbumose fehlte fast ganz.

Ausser den typischen Eiweissspaltungsproducten entstehen aus dem Caseïn natürlich auch phosphorhaltige Producte, die zum Theil mit in Lösung gehen (Lubavin[4]), Salkowski und Hahn[5]), v. Moraczewski[6]), der wechselnde Mengen Pseudonucleïn fand, u. A.). Nucleïnähnliche Körper haben Cl. Willdenow[7]) und Wróblewski[8]) bei der peptischen Caseïnverdauung erhalten, letzterer das Nucleïn nur aus Kuhmilchcaseïn, nicht aus Frauencaseïn. Als erstes Product der Pepsinverdauung fand Salkowski[9]) eine phosphorhaltige Albumose, die durch HCl Paranucleïn abspaltet.

Die peptische Verdauung des Glutencaseïns des Weizens ist von Chittenden und Smith[10]) untersucht worden.

Die Nucleoproteïde sind in Bezug auf ihre Pepsinverdauung [illegible] wenig untersucht. Zuerst nahm man an, dass die Nucleïne über[illegible] durch Pepsin-Salzsäure nicht angegriffen werden. Dann zeigte [illegible][11]), dass bei der Verdauung von zerhackter Thymus durch Pepsin [illegible] Mengen „Nucleïn“ in Lösung gingen.

[illegible] einem rein dargestellten Nucleoproteïd, und zwar aus Pankreas [illegible] Umber[12]) Verdauungsversuche angestellt. Er fand, dass nach [illegible] % des Nucleoproteïds durch Pepsin-Salzsäure gelöst waren. [illegible] dem Neutralisiren und Erhitzen auf 90° schied sich eine [illegible]säure und zwar Bang's[13]) Guanylsäure ab, die ca. 8% P. [illegible] der Spaltung ausschliesslich Guanin und ca. 30% [illegible] Daneben entstehen nucleïnsäurefreie primäre und [illegible] Albumosen, die sich besonders leicht nach Ausfällung der

[1]) [illegible] Chem. Centralbl 1890. I. 170.
[2]) [illegible] Centralbl. f. med. Wiss. 1893. 385.
[3]) [illegible] Z. phys. Ch. 25. 411.
[4]) Hoppe-Seyler's Unters. z. med. Chemie. I. S. 463.
[5]) [illegible] Hahn. Pflüg. Arch. 59. 225.
[6]) [illegible] Z. phys. Ch. 20. S. 28 (dort umfangreiche Litteratur- [illegible]
[7]) [illegible] Z. Kenntn. d. pept. Verd. d. Caseïns. Diss. Bern 1893.
[8]) [illegible] Beiträge zur Kenntniss des Frauencaseïns und seiner [illegible] Diss. Bern 1894.
[9]) [illegible] Ch. 27. 297 (1899).
[10]) [illegible] Journ. of phys. XI. 410.
[11]) [illegible] II. 532 (1894).
[12]) [illegible] Heft 4 5 (1901). S.-A.
[13]) [illegible] 3 (1898).

Guanylsäure durch Mercuriacetat zur Darstellung bringen lassen. Bei längerer Verdauung vermindern sich die Albumosen, und es treten Peptone auf.

Wirkung von Pepsin auf albuminoide Substanzen. Collagen und Glutin werden durch Pepsin in Glutose und Glutinpepton gespalten, wobei Collagen erst in Glutin übergeht (Etzinger[1]), Uffelmann[2]), Tatarinoff[3]), Klug[4]), v. Gerlach[5])).

Levene[6]) hat aus Gelatine durch Pepsinverdauung Proto- und Deuterogelatosen hergestellt, die reicher an Glycocoll sind, als die Gelatine selbst. Scheermesser[7]) hat nach der Siegfried'schen Methode ein Pepton gewonnen, das eine einbasische Säure von der Formel $C_{23} H_{39} N_7 O_{10}$ sein soll.

Chondrogen und Chondrin werden langsamer, aber in ähnlicher Weise zersetzt. Es entsteht dabei ausser Pepton ein reducirender Körper.[8])

Mucin wird nach Kühne und Schiff von Pepsin nicht angegriffen.[9])

Aus Elastin entstehen albumoseähnliche Körper (Etzinger[1]), Gamgee[9]), Horbaczewski[10]), Morochowetz[11]), Chittenden und Hart[12]). Chitin, Conchiolin, Spongin, Keratin werden nicht angegriffen.[6])

Dagegen wird nach Bauer[13]) die von ihm durch überhitzten Dampf aus Horn dargestellte Atmidkeratose von Pepsin und Trypsin langsam angegriffen.

Oxyhämoglobin wird in Albumosen und Pepton unter Abspaltung von Hämatin zerlegt.[14])

Chlorophyll wird von Pepsinsalzsäure zum Theil verdaut, indem das Metaxin angegriffen, das Chloroplastin dagegen nicht verändert wird (Schwarz[15])). Eine verdauende Einwirkung von Pepsin auf andere Fermente ist mehrfach constatirt worden (s. allg. Theil).

---

1) Etzinger, Zeitsch. f. Biol. X. S. 84. (dort ältere Litteratur).
2) Uffelmann, Arch. f. klin. Med. XX. 535.
3) Tatarinoff, Centralbl. f. med. Wiss. 1877. 275.
4) Klug, Centralbl. f. Physiol. IV. S. 189.
5) v. Gerlach, Die Peptone. 1891.
6) Levene, Z. phys. Ch. 37. 81 (1903).
7) Scheermesser, Z. phys. Ch. 37. 364 (1903).
8) Hoppe-Seyler, Physiol. Ch. S. 233 ff.
9) Gamgee, Phys. Ch. d. Verdauung. S. 159. 160.
10) Horbaczewski, Z. phys. Ch. VI. 330.
11) Morochowetz, Maly's Jb. 1886. S. 271.
12) Chittenden u. Hart, Z. f. Biol. 25. S. 368 (1889).
13) Bauer, Z. phys. Ch. 35. 354 (1902).
14) v. Zeynek, Z. phys. Ch. 30. 126 (1900).
15) Schwarz b. Cohn, Beitr. z. Biol. d. Pflanzen. V. S. 73.

Zehntes Capitel.

Das Trypsin.

Das Trypsin, wie es von Kühne genannt worden ist, ist das proteolytische Ferment der Bauchspeicheldrüse und wird von dieser frei in das Darmlumen secernirt. Auch Macerationen des Organes zeigen seine Wirkung.

Die Wirkung des Pankreassaftes auf Eiweisskörper ist, wie Corvisart[1]) angibt, bereits im Jahre 1836 von Purkinje und Pappenheim beobachtet worden. Erkannt, aber nicht nach Gebühr gewürdigt wurde sie auch von Claude Bernard[2]). Genauer untersucht wurde diese wichtige Erscheinung zuerst von Corvisart und dann von Meissner[3]). Dann folgten die Arbeiten Kühne's und seiner Schüler, besonders Danilewsky's[4]). Durch Kühne[5]) wurde festgestellt, dass durch Pankreassaft und das Gewebe der Drüse Eiweisskörper einem Zerfall unterliegen, der sich dadurch von dem peptischen unterscheidet, dass ausser Peptonen auch Leucin und Tyrosin entstehen. Den Vorgang der Secretion untersuchte zuerst Heidenhain[6]) Trotzdem man die intensive Beeinflussung der Eiweisskörper durch das Ferment der Bauchspeicheldrüse ohne Weiteres feststellen kann, ist doch das Pankreas kein absolut zum Leben nothwendiges Organ. Man hat sogar behauptet, dass eine Verödung des Pankreas (z. B. nach Unterbindung des Ausführungsganges[illegible]) überhaupt keine Stoffwechselanomalien herbeiführte. Rosenberg[illegible]) hat indessen nachgewiesen, dass das Fehlen des pankreatischen Saftes im Darm eine Herabminderung der Eiweissumsetzung

[illegible] Sur une fonction peu connue du Pancréas. Paris 1857—58; [illegible] Med. [illegible] VII. 119.

[illegible] Leç. d. physiol. expér. II. (1856).

[illegible] Zeitschr. f. rat. Med. (3.) VII. (1859).

[illegible] Virch. Arch. 25 (1862). 267.

[illegible] Virch. Arch. 39 (1867). 130 (dort die gesammte ältere Litteratur).

[illegible] Pflüg. Arch. X. 557.

[illegible] Pflüg. Arch. 70. 371 (dort die Litteratur über diese Frage).

mit sich bringt. Die relative Entbehrlichkeit der Bauchspeicheldrüse ist jetzt auch durch den Nachweis anderer tryptischer Fermente des Dünndarms (s. u.) plausibler gemacht worden.

Darstellung des Trypsins. Wenn man Pankreassaft mit Alkohol fällt, entsteht ein trypsinhaltiger Niederschlag, den man Pankreatin nannte. Er enthält indessen noch eine Beimengung von Eiweissstoffen, die Kühne[1]) unter dem Namen Leukoid zusammenfasste, und andere Verunreinigungen, von denen er es durch Auflösen in Wasser von 0°, successive fractionirte Fällung mit Essigsäure und Soda, schliesslich durch Dialyse grossentheils befreien konnte. Eine bequemere Methode hat Kühne dann später angegeben. Hammarsten[2]) extrahirt das Pankreas mit 0,03 % Ammoniak und fällt mit Essigsäure. Der Niederschlag wird dann in Sodalösung gelöst. Gulewitsch[3]) extrahirt mit chloroform- und thymolhaltiger Sodalösung, Loew[4]) mit 40 % Alkohol und fällt mit Alkohol-Aether.

Wirksame Fermentlösungen, in denen aber auch die anderen Fermente des Pankreas sich finden, haben durch Glycerinextracte hergestellt Heidenhain[5]), v. Wittich[6]), durch Chloroformwasser, Borsäure- und Kochsalzlösung Roberts[7]), Harris und Gow[8]), Salicylsäure Kühne[9]). Paschutin[10]) hat Versuche über die Extraction der verschiedenen Pankreasfermente durch Salzlösungen gemacht. Jodkalium, arsenigsaures Natrium, schwefligsaures Natrium, Oxalsäure und Weinsäure nehmen vorwiegend das Trypsin auf, sind also zur Herstellung wirksamer Verdauungslösungen geeignet.

Ganz eiweissfreie Trypsinpräparate sind noch nicht hergestellt. Das dem Trypsin beigemengte Eiweiss widersteht der Verdauung sehr hartnäckig.

Trypsin beim Fötus fanden u. A. Albertoni[11]) und Fermi[12]).

---

1) **Kühne**, Verh. d. Heidelb. Nat.-hist. Med. Vereins. Neue F. I. (1876.) S 194 und III. 463.

2) **Hammarsten**, Lehrb. phys. Ch. (1895.) S. 265.

3) **Gulewitsch**, Z. phys. Ch. 27. 544 (1899).

4) **Loew**, Pflüg. Arch. 27. 207 (1882).

5) **Heidenhain**, Pflüg. Arch. X. 557.

6) **v. Wittich**, Pflüg. Arch. II. 196.

7) **Roberts**, On the digestive Ferment. Lumleian lecture. Proc. Roy. Soc. 1880. London. S. 26, cit. n. Gamgee, l. c.

8) **Harris und Gow**, Journ. of Physiol. XIII. 469.

9) **Kühne**, Unters. physiol. Inst. Heidelb. I. (1878). S. 222.

10) **Paschutin**, Müller-Reichert's Arch. f. Phys. 1873. S. 382.

11) **Albertoni**, Maly's Jb. VIII. 254 (1878).

12) **Fermi**, Maly's Jb. 1892. 592.

Ausserhalb des Pankreas wurde es von Sahli[1]), Gehrig[2]), Tasulli[3]), Dastre und Floresco[4]), Bendersky[5]) im Harn gefunden, wo es andererseits Leo[6]) und Stadelmann[7]) nicht finden konnten. Hoffmann[8]) fand Trypsin nur dann im Harn, wenn der Pankreassaft vom Darm abgeschlossen war, sonst niemals, fand es dagegen in der Milz u. a. Organen. Fermi und Pernossi[9]) konnten es im Harn finden, wenn sie es subcutan injicirten. Im Sputum von Lungenkranken fanden es Filehne[10]) und Escherich[11]), besonders bei Bronchiektase und Phthise.

In der Galle fanden ein schwach wirkendes tryptisches Ferment Bruno[12]) und Tschermak[13]); im Coloninhalt des Menschen Hemmeter[14]), im Meconium Pottevin[15]).

Ueber die tryptischen Fermente der Gewebe s. u. bei „Autolyse“.

Bei anderen Wirbelthieren, soweit sie eine Bauchspeicheldrüse haben, fand man es ebenfalls. Bei vielen Fischen fand es Krukenberg[16]) im Magen und Darm; Homburger[17]) proteolytische Fermente von ähnlicher Natur bei Cyprinoiden. Hoppe-Seyler[18]) fand ein Trypsin beim Flusskrebs, Biedermann[19]) beim Mehlwurm. Eine sehr interessante Beobachtung, die auf ein Vorhandensein tryptischer Fermente im Ei hinweist, hat Gayon[20]) gemacht. Er fand in nicht fauligen Eiern Tyrosin. Der Eiinhalt war flüssig; Mikroben nicht vorhanden. Später fand Mroczkowski[21]) ein tryptisches Ferment in getrocknetem Hühnereiweiss.

1) Sahli, Pflüg. Arch. 36. 224.
2) Gehrig, Pflüg. Arch. 38. 35.
3) Tasulli, Maly's Jb. 1894. 289.
4) Dastre und Floresco, Soc. Biol. 49. 849 (1897).
5) Bendersky, Virch. Arch. 121. 554.
6) Leo, Pflüg. Arch. 37. S. 226, 39. S. 246.
7) Stadelmann, Z. f. Biol. 24. 226.
8) Hoffmann, Pflüg. Arch. 41. 148 (1887).
9) Fermi und Pernossi, Z. f. Hyg. XVIII. S. 125.
10) Filehne, Sitzb. d. Erlanger Phys.-med. Soc. 1877. S. 169.
11) Escherich, Arch. f. klin. Med. 37. 196 (1885).
12) Bruno, Arch. d. scienc. biol. St. Petersbourg. VII.
13) Tschermak, C. f. Phys. XVI. 329 (1902).
14) Hemmeter, Pflüg. Arch. 81. 151 (1900).
15) Pottevin, Soc. Biol. 52. 589 (1900).
16) Krukenberg, Unters. physiol. Inst. Heidelberg 1882. II. S. 396.
17) Homburger, C. med. Wiss. 1877. 561.
18) Hoppe-Seyler, Pflüg. Arch. XIV. 394.
19) Biedermann, Pflüg. Arch. 72. 160.
20) Gayon, Thèse, Paris 1875, cit. n. Schützenberger, l. c. S. 199.
21) Mroczkowski, Biolog. Centrbl. IX. 154 (1889/90).

(Ueber proteolytische Fermente bei niederen Thieren überhaupt s. b. Pepsin und ferner über die Verdauung der niederen Thiere bei v. Fürth, Vergleich. chem. Phys. der niederen Thiere, Jena 1903).

Die fundamentale Bedeutung der tryptischen Wirkung für die Verdauung lässt sich direct daraus erkennen, dass es gelingt, typische Spaltproducte der Trypsinwirkung im Dünndarm nachzuweisen. Nach langer Controverse über diesen Punkt ist es Kutscher und Seemann[1]) neuerdings gelungen, sicher im Inhalt des Dünndarmsaftes nachzuweisen: Leucin, Tyrosin, Arginin, Lysin. Doch entstehen diese Stoffe nicht ausschliesslich durch das Trypsin des Pankreas; auch das Erepsin und das proteolytische Ferment des Darmes selbst sind daran betheiligt.

Dagegen findet sich in der Darmwand nichts mehr davon. Nach der modernen Anschauung vollzieht sich hier eine Synthese der Bruchstücke zu genuinem Körpereiweiss. Dass die tryptischen Bruchstücke thatsächlich den Stickstoffbedarf des Hundes decken können, hat Loewi[2]) erwiesen.

Secretion des Trypsins. Die Secretion des Trypsins ist ceteris paribus abhängig von der Grösse der pankreatischen Secretion überhaupt. Doch treten in dem absoluten und relativen Fermentgehalt dieses Saftes charakteristische Schwankungen auf, die von der Art der zugeführten Nahrung abhängig sind, indem die Quantität der verschiedenen Pankreasfermente sich nach der zu erfüllenden physiologischen Function richtet, worauf wir bereits im allg. Theil eingegangen sind.

Die Secretionsbedingungen des Pankreas im Allgemeinen sind von Pawlow (l. c. S. 147 ff.) untersucht worden.

Als bestes Reizmittel für die Secretion erwies sich verdünnte Säure, in den Magen oder besser das Duodenum direct eingeführt; schwächer wirken Wasser und Fette. Ein directer Einfluss nervöser, psychischer Momente ist mindestens sehr wahrscheinlich gemacht worden. Fleischextract, das Magensaft treibt, ist hier unwirksam; Alkalien hemmen vom Magen resp. Duodenum aus beträchtlich.

Nach Bayliss und Starling[3]) ist hingegen der Secretionsreiz vom Centralnervensystem unabhängig, vielmehr der Thätigkeit eines besonderen Stoffes zuzuschreiben. Das „Secretin“ findet sich als „Prosecretin“ in den Epithelzellen des oberen Darmabschnittes und wird durch Säuren activirt. Es ist kein Ferment, da es Kochen ver-

1) Kutscher u. Seemann, Z. phys. Ch. 34. 528 (1902).
2) Loewi, Arch. f. exp. Path. 48. 303 (1902).
3) Bayliss und Starling, Journ. of physiol. 28. Nr. 5 (1902). S.-A.

trägt. Camus[1]) hat diese Beobachtungen im Wesentlichen bestätigt. Die Secretine verschiedener Thierarten sind von identischer, graduell etwas verschiedener Wirkung. Popielski[2]) spricht aber dem Secretin die specifische Wirkung ab, da andere saure Organextracte ähnlich wirken sollen, und glaubt an den Zusammenhang der Pankreassecretion mit dem Centralnervensystem.

Eigenschaften des Trypsins. Es ist wie alle Fermente in reinem Zustande nicht dargestellt. Wie die Diastase scheint das Trypsin eine den Eiweisskörpern nahestehende, sehr complicirte Zusammensetzung zu haben; nach Kühne soll es sogar noch complexer gebaut sein, da es erst bei der Spaltung Eiweissstoffe abscheidet, wenn man es mit verdünnten Säuren erhitzt. Ein Nucleoproteïd soll es nach Levene[3]) nicht sein. Es ist leicht löslich in Wasser und wasserhaltigem Glycerin. In reinem Glycerin und starkem Alkohol ist es unlöslich, in 40procentigem Alkohol dagegen löslich (Dastre[4])). Vernon[5]) unterscheidet eine ganze Reihe von verschiedenen Trypsinen, die sich durch verschiedene Beständigkeit, besonders gegen Alkalien, auszeichnen.

Den **Nachweis der Trypsinwirkung** und eine annähernde Schätzung kann man vornehmen an Fibrin, das nach dem Grütznerschen Princip (s. b. Pepsin) mit Magdalaroth gefärbt ist. Man bringt es auf ein Filter und beobachtet (und zählt eventuell) die gefärbten Tropfen, die bei der Trypsinwirkung aus dem Trichter herauskommen (Gehrig l. c.). Auch die beim Pepsin jetzt allgemein übliche Mett'sche Methode ist für das Trypsin genau so anwendbar; doch giebt es auch noch andere quantitative Methoden.

Fermi[6]) benutzt Gelatine als Untersuchungsmittel für Trypsinwirkung. Hankin und Wesbrook[7]) in ähnlicher Weise eine Glasplatte, die mit einer dünnen Schicht von Thymolgelatine überzogen ist. Ein Wassertröpfchen bleibt bei geringer Neigung der Platte an seinem Ort, während ein trypsinhaltiges Tröpfchen sich nach unten zieht.

Linossier[8]) benutzt feine Röhrchen von Gelatine, die mit Methylviolett gefärbt ist.

1) Camus, Journ. de physiol. et path. IV. 998 (1902). S.-A.
2) Popielski, Centralbl. f. Phys. 1902. 506 20. XII.
3) Levene, Americ. Journ. of Physiol. V. p. 298 (1901).
4) Dastre, Arch. d. physiol. 1896. 120.
5) Vernon, Journ. of physiol. 27. 288 (1901).
6) Fermi, Arch. f. Hyg. X. 1. (1890).
7) Hankin und Wesbrook, Ann. Past. VI. 636 (1892).
8) Linossier, Soc. Biol. 52. 298 (1900).

Bierry und Henri[1]) verwenden frische Milch nach dem Centrifugiren und Filtriren durch feuchte Papierfilter, um sehr geringe Trypsinwirkung nachzuweisen. Die Milch hellt sich auf und wird in 10—15′ durchscheinend.

Schumm[2]) empfiehlt zum Nachweis von Trypsin eine sehr schwach alkalische Lösung von Witte-Pepton in einer Concentration von 25—33 %. Es entsteht dabei Tyrosin, das sich in der von genuinem Eiweiss freien Flüssigkeit leicht nachweisen lässt. Vernon[3]) benutzt feuchtes feingehacktes Fibrin (in 50 % Glycerin aufbewahrt), das er vor der Verdauung zu constantem Volum centrifugirt, und dessen Rest er nach der Verdauung wieder centrifugirt (2′). Das Fibrin muss erst zwei Stunden vor dem Fermentzusatz der Quellung überlassen werden.

Seine Wirkung steigt bis ca. 60°, fällt dann rasch und hört bei 75—80° auf (Roberts[4])). Dagegen giebt Biernacki[5]) an, dass es in schwach alkalischer Lösung schon bei 50°, in neutraler sogar bei 45° unwirksam werde. Aehnlich bekundet Heidenhain[6]), dass es bei längerem Erwärmen auf 35° an Wirksamkeit verliert, eine Angabe, die entgegen älteren Untersuchern von Vernon (l. c.) durchaus bestätigt wird. Er fand, dass bei 38° schon in wässriger Lösung in 30′ ca. 33 % des Ferments zerstört sind, und dass Soda diesen Process sehr beschleunigt. Die einzelnen Präparate verhalten sich dabei ausserordentlich verschieden.

Trockenes Erhitzen verträgt es (Hüfner[7])), sogar bis auf 160° (Salkowski[8])). In Aether im zugeschmolzenen Glasrohr wird es schon bei 80° zerstört, in Amylalkohol bleibt es bei 100° wirksam (Fermi und Pernossi[9])).

Das Trypsin folgt nach Vernon auch der Schütz-Borissowschen Regel: Die Verdauungsgeschwindigkeit ist proportional der Quadratwurzel aus der Fermentmenge (Näh. s. b. Pepsin).

Es wirkt am besten in schwach alkalischer Lösung, deren Optimalconcentration aber für einzelne Präparate sehr verschieden ist, (0,2—3 %) (Vernon l. c.), durchschnittlich ca. 1 %, jedoch auch in neutraler und schwach saurer Lösung, nach Schierbeck[10]) sogar in ganz schwach

1) Bierry u. Henri, Soc. Biol. 54. 667 (1902).
2) Schumm, Z. phys. Ch. 36. 292 (1902).
3) Vernon, Journ. of physiol. 26. 405 (1901).
4) Roberts cit. n. Gamgee, l. c. S. 235.
5) Biernacki, Z. f. Biol. 28. 62.
6) Heidenhain, Pflüg. Arch. X. 557.
7) Hüfner, J. pr. Ch. N. F. Bd. V. 372.
8) Salkowski. Med. Centralbl. 1876. 29. Virchow's Arch. 70. 158.
9) Fermi u. Pernossi, Z. f. Hyg. XVIII. 83.
10) Schierbeck, Scand. Arch. f. Physiol. III. 344.

... würde sich seine Wirksamkeit denen der ... falls in schwach saurer Lösung ihr Optimum ...

... es bis zu einem Salzsäuregehalt von 0,05 % ... bestätigt wird, dagegen soll es nach ... 0,3 % wirksam sein. Stärkere Säuren wirken ...; indessen wird diese Wirkung paralysirt. ... gewisse Förderung eintreten, wenn die Säuren ... sind (Chittenden und Cummins[4]).

... Trypsinwirkung, besonders bei Gegenwart von ..., doch auch von Salzsäure (Rachford ... das Fibrin nicht ganz mit HCl gesättigt ... alkalischer Reaction dagegen hemmt die

... wird es wie alle Fermente schnell zer- ... die Alkalescenz schwächt, wirkt Kohlen- ... fördernd, in saurer aber hemmend

... lichkeit gegen schwache Soda nach ... gewöhnlich angenommen wird, besonders bei ... ein Ferment, desto schneller wird

... salzen wurde vielfach untersucht, ein- ... Er fand, dass alle Salze die Trypsin- ... Intensität dieser Beeinflussung sehr ... zeigten sich am stärksten. ... des Ammoniumphosphat als eher ... silber- und Eisensalze (Chittenden

... untersuchten den Einfluss von Arznei- ... in kleinen Dosen fördernd, in

... Heidelb. N. F. I.
...

... Maly's Jb. 1885.
... 1883).
... Medic. Record. 21. XII. 95. Malys Jb.

... (1900).
... 1902)
... Physiol. III. 311.
... pankr. Eiweissverdg. Diss. Breslau 1876.
... Maly's Jb. 20. 248 (1890).

grösseren hemmend wirken, indess auf Trypsin im Allgemeinen schwächer als auf Pepsin. Paraldehyd schädigt besonders intensiv. Sehr schädlich wirkt Formaldehyd (Bliss und Novy[1]); die Verbindungen dieses Aldehyds (Methylenalbumine etc.) sind nach Schwarz[2]) völlig resistent gegen Trypsin.

Eine umfassende Arbeit über den Einfluss aller möglichen Stoffe auf Trypsin wurde von Fermi und Pernossi[3]) mitgetheilt, auf die hier nur verwiesen werden kann.

Durch Pepsin wird es in salzsaurer Lösung schnell unwirksam (Mays[4]), Langley[5])). Nach Kühne[6]) ist dies physiologisch wichtig, insofern, als es eine Erklärung für die Bedeutung der Galle im Verdauungsprocess darbietet. Die Galle fällt normaler Weise das Pepsin aus; wenn diese Function, also z. B. bei einer Fistel, fehlt, so dringt das Pepsin im Darm vor und zerstört in mehr oder minder hohem Grade das Trypsin; dadurch wird die Eiweissverdauung gehemmt.

Eine besondere Wirkung soll der Pankreassaft auf Milch resp. Caseïnlösung haben, die er, aber in vom Labferment verschiedener Weise, zum Gerinnen bringt (Metacaseïnreaction; Kühne[7]), Halliburton und Brodie[8])). Es bewirkt u. a., dass das so veränderte Caseïn beim Kochen gerinnt, mit Kochsalz einen Niederschlag giebt etc. (Edkins[9])). Dieses Metacaseïn stellt nach Roberts[10]) das erste tryptische Verdauungsproduct des Caseïns dar.

Nach Loeb[11]) bewirkt aber Pankreatin eine typische Labgerinnung, wenn man sehr geringe Mengen verwendet, oder das Trypsin durch Zusatz von Antitrypsin, das auch im normalen Serum enthalten ist, abschwächt. Das Trypsin hat eine störende Wirkung auf die Labung. Auch Vernon (l. c.) sieht das Lab des Pankreas als echtes Lab an.

Die verschiedenen Thierarten haben verschieden energische Pankreasverdauung. Für das proteolytische Ferment fand Floresco[12]) die Reihenfolge: Schwein, Hund, Rind, Hammel; auf Leim wirkte dagegen das des Hundes am stärksten, dann Schwein, Hammel, Rind.

---

1) **Bliss und Novy**, J. of exper. med. IV. 47 (1899).
2) **Schwarz**, Z. phys. Ch. **31**. 460 (1901).
3) **Fermi und Pernossi**, Z. f. Hyg. XVIII. 83.
4) **Mays**, Unters. physiol. Inst. Heidelb. III. 378.
5) **Langley**, Journ. of. physiol. III. 263.
6) **Kühne**, Verh. Naturh. Med. V. Heidelb. 1877. S. 190.
7) **Kühne**, Verh. Naturhist. Med. V. Heid. N. F. III.
8) **Halliburton und Brodie**, Journ. of Phys. XX. 97.
9) **Edkins**, Journ. of physiol. XII. 193.
10) **Roberts**, Proceed. Royal Society. **32**. 145.
11) **Loeb**, Centrbl. f. Bact. **32**. Heft 6 (1902).
12) **Floresco**, Soc. Biol. **48**. 77. 890 (1896).

Das Antitrypsin. Wie bei vielen anderen Fermenten ist auch bei dem Trypsin ein hindernder Einfluss von Serum und Organsaft angegeben worden (Camus u. Gley[1]), Charrin und Levaditi[2]), Landsteiner[3])). Man hat neuerdings diese Thatsache auf die Existenz eines Antitrypsins bezogen, das Achalme[4]) künstlich erzeugen konnte. Er benutzt Milch als Reagens (s. o.).

Durch Injection von sterilem, durch Thonfilter filtrirtem Pankreatin bei Meerschweinchen intraperitoneal erhielt er ein antitryptisch wirkendes Serum, dessen hemmende Wirkung beträchtlich stärker war, als die des normalen. Das Serum schützt auch gegen die Giftwirkung bei Thieren. Auf Papayotin wirkt es garnicht. Das Antitrypsin wird bei 56° geschwächt und bei 64° vernichtet.

Ueber die Existenz normaler Antifermente gegen proteolytische Enzyme s. b. Pepsin (Weinland).

Das Zymogen des Trypsins, Enterokinase. Dass das Pankreas kein fertiges Trypsin enthält, sondern nur eine Vorstufe, die bei geeigneter Behandlung das wirksame Enzym abspaltet, fand Heidenhain[5]).

Podolinsky[6]) hat dann dieses Zymogen genauer untersucht. Es wird durch neutrale Glycerinlösung aus der Drüse entfernt und ist darin beständig. Man kann es auch daraus durch Alkohol fällen und in Sodalösung auflösen, ohne dass es in Ferment übergeht, was indess Kühne leugnet.

Es geht in actives Ferment über durch Liegenlassen an der Luft, durch Verdünnung der Glycerinlösung mit Wasser, durch Behandlung mit Säuren.

Podolinsky nimmt dabei eine Wirkung des Sauerstoffs an, wie auch Wasserstoffsuperoxyd und Platinmohr fermentbildend wirken. Er versuchte durch Reduction das Zymogen aus dem Ferment zurückzugewinnen; während Phosphor und Zinkstaub ohne Wirkung waren, schwächte Hefe die Enzymwirkung, die durch Sauerstoffzufuhr wieder verstärkt wurde.

Durch alle Salze wurde die Activirung beeinträchtigt.

Vernon[7]) unterscheidet zwei Vorstufen, eine unlösliche, die auch das Prochymosin des Pankreas mit enthält, also ein für beide Zymogene gemeinsames Prozymogen darstellt; und ein lösliches Protrypsin

1) [illegible] Soc. Biol. 47. 825 (1897).
2) [illegible] Levaditi, Soc. Biol. 52. 83 (1900).
3) [illegible] Bact. 27. 357 (1900). S. A.
4) [illegible] Past. XV. 737 (1901).
5) [illegible] Pflüg. Arch. X. 581.
6) [illegible] Beiträge zur Kenntniss d. pankreat. Eiweissferm. Diss.
7) [illegible] Phys. 27. 269 (1901), 28. 448 (1902).

und Prochymosin; das Diastasezymogen ist unlöslich und von den beiden anderen unabhängig (s. d.). Das lösliche Zymogen ist erst durch mehrmals wiederholte Extraction aus dem Pankreas zu entfernen. Das Zymogen ist beständiger als das freie Ferment.

Die Frage des Trypsinogens hat durch neue hochwichtige Arbeiten ein ganz anderes Gesicht gewonnen. Schon Herzen[1]) fand, dass die Function der Milz in gewissem Zusammenhange mit der Spaltung des Zymogens zu stehen scheint, indem das Pankreas eines ausgehungerten Hundes erst durch die Behandlung mit Milzsubstanz eines gefütterten Hundes wirksam wurde.

Pankreas wirkt mit Milzsubstanz zusammen energischer als für sich allein; diese Wirkung ist nicht etwa einer Activirung des Trypsinogens durch Hämoglobin-Sauerstoff zuzuschreiben, da arterielles Blut unwirksam, kohlenoxydgesättigtes Milzvenenblut dagegen wirksam ist (Herzen[2])).

Dann aber fanden Pawlow und Chepowalnikoff[3]), dass das Dünndarmsecret eine ausgesprochen stimulirende Wirkung auf das im Pankreas enthaltene Trypsinogen ausübt, und zwar in ganz specifischer Art. Während die Pankreasfistelsäfte an sich nur eine äusserst geringe proteolytische Wirkung haben, werden sie durch geringe Mengen frischen Darmsaftes ausserordentlich schnell activirt, und zwar ausschliesslich in Bezug auf die proteolytische Function, während z. B. Galle die Fettspaltung beschleunigt.

Wichtig ist ferner die Angabe, dass dies activirende Princip durch Erhitzen zerstört wird. Pawlow bezeichnet es als Enterokinase und hält es für ein eigenes Ferment.

Nach Vernon[4]) ist die Enterokinase auch in Pankreasauszügen, die wirksam sind, enthalten, also auch in käuflichen Trypsinpräparaten, so dass diese Extracte die schwach wirksamen activiren; jedoch ist dieses Agens gegen Soda viel weniger empfindlich als die Darmenterokinase, auch gegen sehr verdünnte HCl und Galle.

Ein Ferment scheint indessen die Enterokinase nicht zu sein. Delezenne[5]) nahm die Arbeiten wieder auf und erzielte sehr interessante Resultate. Er konnte nämlich zeigen, dass sie allerdings eine Reihe von Eigenschaften mit den Fermenten theilt.

Sie fällt mit Calciumphosphat, Collodium und Alkohol wie die Fermente. Sie wird bei 65° in ihrer Wirksamkeit beträchtlich herab-

1) Herzen, Centralbl. f. med. Wiss. 1877. S. 435.
2) Herzen, Annali di chim. e farm. 1888. S. 302.
3) Chepowalnikoff, Gazette clinique de Botkine 1900, cit. n. Metchnikoff.
4) Vernon, J. of phys. 28. 375 (1902).
5) Delezenne, Soc. Biol. 53 (1901) 54 (1902) (zahlreiche Arbeiten).

gesetzt, nach 3h bei 67° zerstört (Hamburger und Hekma[1])). Soda hebt bei 2 % die Activirung auf (Vernon[2])), ohne die E. zu zerstören; verdünnte HCl zerstört sie.

Ihre Haupteigenschaft aber, die sie theoretisch ausserordentlich wichtig macht, ist ihre Fähigkeit, sich quantitativ an Fibrin zu binden. Man kann nach Delezenne eine Enterokinase enthaltende Flüssigkeit völlig davon befreien, wenn man sie mit einigen Fibrinflocken durchschüttelt.

Das Fibrin bindet also die Enterokinase quantitativ, ohne selbst aber irgendwelche Veränderung dadurch zu erleiden. Infolge dessen hat man kein Recht, die Enterokinase ein Ferment zu nennen.

Ebenso lehnen Hamburger und Hekma[1]) die Deutung als Ferment ab, da die Activirung des Trypsins durch Darmsaft nach stöchiometrischen Gesetzen verläuft.

Ihre grosse theoretische Bedeutung liegt darin, dass sie wahrscheinlich einen Hilfskörper darstellt, der die Wirkung des Trypsins vermittelt.

Wir haben im allgemeinen Theil bereits auf die Bedeutung dieser Annahmen für die Stellung der Fermente zur Seitenkettentheorie hingewiesen.

Es scheint in der Enterokinase ein echter Ambocepter im Sinne Ehrlich's thätig zu sein, der einerseits das Fibrin, andererseits das Trypsin gleichsam als Complement bindet. Auch Metchnikoff (l. c. S. 104) schliesst sich dieser Anschauung an.

Besonders der Umstand, dass sich die Enterokinase fest an rote Blutkörperchen bindet, und sie erst dadurch für die Auflösung durch Pancreassaft empfindlich macht, während andererseits blosser Darmsaft die Blutkörperchen auch dann nicht löst, wenn sie mit inactivem Pankreassaft vorbehandelt sind, spricht dafür, dass thatsächlich die Kinase als Amboceptor fungirt (Delezenne)[3]).

Als Quelle der Enterokinase sieht Delezenne die Leukocyten an. An diesem Punkte berühren sich also seine Arbeiten mit denen von Cohnheim und Kutscher und Seemann, denen wir an anderer Stelle gerecht werden. In wie weit die Enterokinase sich mit dem Cohnheim'schen Erepsin (s. d.) und den von Leukocyten ausgehenden autolytischen Fermenten des Darmes nach Kutscher und Seemann bedeckt, lässt sich noch nicht mit Sicherheit übersehen.

Delezenne[4]) gelang es, aus permanenten Pawlow'schen Fisteln

[1]) Hamburger u. Hekma, Journ. de phys. et path. IV. 805 (1902). S. A.
[2]) Vernon, Journ. of phys. 28. 375 (1902).
[3]) Delezenne, Soc. Biol. 55. 171 (13. II. 03).
[4]) Delezenne und Frouin, Soc. Biol. 54. 691 (1902).

durch Katheterisiren ein Secret zu erhalten, das absolut ohne jede Wirkung auf Eieralbumin war, was vorher nie gelingen wollte. Auf dieses wirkte die Enterokinase des Darmsaftes noch augenscheinlicher. Bei temporären Fisteln ist das Secret manchmal sehr schwach, manchmal energischer wirksam. Nach Lintwarew[1]) ist der reine Pancreasfistelsaft bei exclusiver Fleischkost stets an sich wirksam und bedarf keiner Activirung, während er bei Brot- und Michdiät inactiv ist. In allen Fällen, wo eine deutliche Wirkung vorhanden war, fand Delezenne[2]) Leukocyten im Secret, die also wohl den Amboceptor, die Enterokinase liefern.

Ob die Enterokinase durch Erhitzen zerstört wird, ist noch nicht über jeden Zweifel erhaben.

Wenigstens giebt Larguier des Bancels[3]) an, dass er auch mit gekochter Maceration aus Dünndarmschleimhaut ähnliche Effecte, wenn auch schwächer, erzielt habe. Delezenne hat zwar angeführt, dass diese geringe Activirung auf die Säurebildung zurückzuführen sei; doch hat Larguier diesen Einwand dadurch zu entkräften gesucht, dass er auch mit neutralisirten Extracten das Gleiche erzielt habe. Auch Bierry und Henri[4]) konnten die Enterokinase erhitzen, ohne sie zu zerstören, sogar auf 120°, 20 Minuten lang.

Dieser Punkt ist also noch offen, im Uebrigen unwichtig, denn wenn die Enterokinase ein Amboceptor ist, so kann sie sehr möglicherweise thermostabil sein.

Ob nebenbei auch die Milz durch den Blutstrom eine Kinase liefert, ist nicht auszuschliessen; wenigstens hält Bellamy[5]) die Bedeutung der Milz für die Trypsinbereitung aufrecht, obwohl er engere Beziehungen dieser Kinase mit der Enterokinase ablehnt.

Dagegen sind aus ganz anderen Geweben, nämlich aus Bakterien, aus Schlangengift und aus giftigen Pilzen von Delezenne[6]) ähnliche Kinasen erhalten worden.

Das Erepsin. Ein sehr eigenartiges proteolytisches Ferment fand Cohnheim[7]) in der Darmschleimhaut und konnte es durch Ammonsulfatfällung vom Trypsin trennen.

Es wirkt auf genuine Eiweisskörper garnicht ein, sondern nur auf Albumosen und Peptone, sowie Caseïn, Protamine und Histone. Es bildet die üblichen Spaltungsproducte.

1) **Lintwarew**, Diss. Petersb. 1902. Biochem. Centralbl. I, S. 103 (1903).
2) **Delezenne**, Soc. Biol. 54. 693.
3) **Larguier des Bancels**, Soc. Biol. 54. 651 (1902).
4) **Bierry und Henri**, Soc. Biol. 54. 667 (1902).
5) **Bellamy**, Journ. of physiol. 27. 323 (1901).
6) **Delezenne und Mouton**, Soc. Biol. 55. 27 (1903).
7) **Cohnheim**, Z. phys. Ch. 33. 451 (1901); ferner 35. 134 (1902).

Im Darmsaft fanden dasselbe Ferment von recht schwacher Wirkung beim Menschen Hamburger und Hekma[1]), beim Pawlow'schen Hunde Salaskin[2]). Nun haben aber Kutscher und Seemann[3]) ein schwaches proteolytisches Ferment im Darmsaft nachgewiesen, das auch Fibrin zersetzt, und führen andererseits die weiter spaltenden Processe innerhalb der Darmschleimhaut, die Cohnheim seinem Erepsin zuschreibt, auf autolytische Processe zurück, die durch die Fermente der Leukocyten bewirkt werden (s. u.).

Danach ist also erstens in Frage gestellt:

Ist das im Darmsaft vorhandene proteolytische Ferment wirklich mit der Eigenschaft begabt, die ihm Cohnheim zuschreibt, d. h. spaltet es kein natives Eiweiss?

Zweitens sind die abbauenden Vorgänge in der Darmschleimhaut durch das Erepsin oder durch Autolyse bedingt?

Nun sind aber noch andere Einwände gemacht worden. Embden und Knoop[4]) ziehen nämlich aus ihren Versuchen den Schluss, dass die Peptone in der Darmwand überhaupt nicht verändert, weder zerspalten noch zu Eiweiss regenerirt werden, sondern die Darmwand passiren und ins Blut übergehen. Sie haben im normalen Blut Albumosen nachgewiesen, ebenso Langstein[5]). Damit hätte das Erepsin seine wichtigste Function verloren.

Cohnheim[6]) hat indessen gegen Kutscher und Seemann die Existenz des Erepsins und seine Bedeutung aufrecht erhalten, und lehnt die Autolyse ab, da Erepsin eben keine genuinen Eiweissstoffe angreift und andererseits Arginin und nicht mehr Ammoniak bildet, als Trypsinverdauung.

Producte der Trypsinverdauung. Trypsin wirkt sehr energisch auf alle Eiweisskörper, auch auf ihre einfachsten Repräsentanten, die Protamine (Kossel und Matthews[7])). Erfolgreiche Versuche, einfachere Substanzen durch Trypsin zu spalten, finden sich bei Blank[8]), der Hippursäure gespalten haben will; dagegen gelang es Gulewitsch[9]) nicht bei einem einzigen einfacheren Stoffe einwandsfrei. Gonnermann[10]) fand, dass Trypsin Acetamid, Formanilid und Acetanilid spaltet.

1) Hamburger und Hekma, Journ. de phys. et pathol. IV. S. 805 (1902).
2) Salaskin, Z. phys. Ch. 35. 419 (1902).
3) Kutscher und Seemann, Z. phys. Ch. 34. 530 (1902), 35. 432 (1902).
4) Embden und Knoop, Hofm. Beitr. III. 120 (1902).
5) Langstein, Hofm. Beitr. III. 373 (1903).
6) Cohnheim, Z. phys. Ch. 36. 13 (1902).
7) Kossel u. Matthews, Z. phys. Ch. 25. 190.
8) Blank b. Nencki, Arch. f. exp. Path. 20. S. 377.
9) Gulewitsch, Z. phys. Ch. 27. 540.
10) Gonnermann, Apoth.-Ztg. 1902. S.-A.

Aus ungekochtem Fibrin soll nach Herrmann[1]) ein bei 55 bis 60° gerinnendes Globulin bei der Trypsinverdauung entstehen, während das mit ihm gefundene Paraglobulin (Otto[2]), Hasebroek[3])) eine Verunreinigung des Fibrins darstellt.

Dann entstehen als Zwischenproducte Albumosen und Peptone, bei energischer Einwirkung indess hauptsächlich zwei Gruppen von Körpern, nämlich Aminosäuren und Diaminosäuren (Hexonbasen): Lysin, Arginin und Histidin. Ferner bildet sich Ammoniak, Cystin und aromatische Stoffe: Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan u. a. Im Allgemeinen verläuft die Trypsinspaltung völlig analog der Spaltung durch Säuren, wie sie jetzt besonders Emil Fischer klar gelegt hat; die geringen noch vorhandenen Differenzen werden vermuthlich noch verschwinden.

Bevor wir auf die nähere Charakteristik dieser Spaltungsproducte eingehen, müssen wir die in neuester Zeit aufgetretene Streitfrage über die Existenz des sog. Kühne'schen Antipeptons in den Kreis unserer Betrachtung ziehen.

Wie wir in dem Capitel „Pepsin“ auseinandergesetzt haben, glaubte Kühne[4]) die Existenz zweier Arten von Peptonen annehmen zu müssen; er führte aus, dass das Hemipepton durch Trypsin weiter zersetzt würde, während das Antipepton gegen dieses Enzym beständig sei. Ueber seine näheren Eigenschaften sagt er nichts Sicheres aus, hielt es auch wohl kaum für ein chemisches Individuum. Dahingegen sprachen sich Siegfried[5]) und Balke[6]) für die chemische Individualität des „Antipeptons“ aus, das mit der Siegfried'schen Fleischsäure identisch sein sollte.

Kutscher[7]) ist nun der Nachweis gelungen, dass sich aus dem sogen. Antipepton durch Fällung mit Phosphorwolframsäure bedeutende Mengen von Hexonbasen, aus dem nicht fällbaren Rest dagegen Leucin, Tyrosin und andere Aminosäuren gewinnen lassen.

Ferner ist es ihm gelungen, die dem Antipepton als besonders charakteristisch zugeschriebene Biuretreaction bei der Trypsinverdauung von Pankreassubstanz bis auf einen ganz geringen Rest zum Verschwinden zu bringen, eine seither oft bestätigte Thatsache. Aus

1) Herrmann, Z. phys. Ch. XI. 508.
2) Otto, Z. phys. Ch. VIII. 129.
3) Hasebroek, ibid. XI. 348.
4) Kühne, Z. f. Biol. 22. 450; 28. 571; 29. 1. 308.
5) Siegfried, Dubois Arch. f. Phys. 1894. 401. Z. f. phys. Ch. 21. 360.
6) Balke, Z. phys. Ch. 22. 248.
7) Kutscher, Z. phys. Ch. 25. 195; 26. 110. Ferner: Die Endprod. d. Trypsinverdauung. Habil.-Schr. Strassburg 1899.

allem diesem lässt sich schliessen, dass das Antipepton im Sinne Kühne's aus der Schilderung der Trypsinverdauung zu verschwinden hat.

Indessen ist es neuerdings Siegfried[1]) gelungen, scheinbar einheitliche Körper bei der Trypsinverdauung zu isoliren, die allerdings den Namen Antipepton im Kühne'schen Sinne insofern nicht mehr verdienen, als sie eben nicht der Hälfte des Eiweissmolecüls entsprechen. Siegfried hält aber deshalb an dem Namen fest, weil sie gegen Trypsin resistent sind und bei weiterer Spaltung durch Salzsäure in einfache Spaltungsproducte zerfallen.

Aus dem von Albumosen durch Ausfällen mit Schwefelsäure in gesättigter Lösung von Ammonsulfat befreiten Verdauungsgemisch isolirte er durch Fällung mit Eisenammoniakalaun zwei Antipeptone:

Antipepton α ($C_{10}H_{17}N_3O_5$). Einbasische Säure. Mol.-G. nach der Gefrierpunktsmethode = ca. 290 (ber. 259). Liefert bei der Säurespaltung Lysin, Lysatinin (s. u.), Arginin nicht (?), Asparaginsäure.

Antipepton β ($C_{11}H_{19}N_3O_5$). Einbasische Säure. Mol.-G. 286 (ber. 273). Spaltung: dieselben Hexonbasen, aber Glutaminsäure.

Beide Antipeptone sind linksdrehend. Geben starke Biuretreaction, Fällung mit Gerbsäure und Phosphorwolframsäure in nicht zu verdünnten Lösungen.

Ein Antipepton aus Leim mit etwa dem doppelten Moleculargewicht ergab bei der Spaltung Arginin, Lysin, Glycocoll und Glutaminsäure.

Nach diesen Befunden kann man annehmen, dass es Siegfried gelungen ist, relativ einfache Bruchstücke des Eiweisscomplexes zu fassen, die aber noch nicht die letzten Abbauproducte sind, sondern noch complexe Derivate derselben. Sie würden dann eine ähnliche systematische Stellung einnehmen, wie die von E. Fischer und Bergell[2]) bei der Spaltung von Seidenfibroïn isolirten „Peptide", die complicirte Derivate der Aminosäuren darstellen, z. B. Glycylalanin etc., nur dass diese Peptide nur aus Monaminosäuren sich zusammensetzen, während die Siegfried'schen auch Diaminosäuren enthalten.

Einfache Spaltungsproducte. **Ammoniak.** Hirschler[3]) und Stadelmann[4]) fanden bei der Verdauung von Fibrin geringe Mengen Ammoniak. Diese Angaben wurden vielfach bestätigt.

Doch scheint diese Ammoniakabspaltung nicht aus einer tiefgreifenden Veränderung des Eiweissmolecüls hervorzugehen. Dzierz-

1) Siegfried, Z. phys. Ch. 35. 164 (1902).

2) Fischer u. Bergell, Vorl. Mittlg. a. d. Carlsbader Naturf.-Vers. Sept. 1902.

3) Hirschler, Z. phys. Ch. X. 302.

4) Stadelmann, Z. f. Biol. 24. 226.

gowsky und Salasin[1]), sowie Mochizuki[2]) gelang der Nachweis, dass die als Ammoniak abgespaltenene Stickstoffmenge bei der tryptischen Verdauung von krystallisirtem Serumalbumin genau der Menge des einfach mit Säure austreibbaren N entspricht, also dem „Amidstickstoff" nach Hausmann's Schema.

Im Gegensatz dazu wird bei der Autolyse (s. u.) ein beträchtlich grösserer Theil des Gesammteiweissstickstoffs als Ammoniak abgespalten; es ergiebt sich also, wie Jacoby hervorhebt, ein tiefgreifender Unterschied zwischen diesen beiden Fermentprocesse.

Glycocoll: Aminoessigsäure $CH_2\langle{}^{NH_2}_{COOH}$, längst bekannt als Spaltproduct des Leims, wurde von Spiro[3]) unter den Spaltproducten der genuinen Eiweisskörper mit Hilfe eines neuen Verfahrens aufgefunden, dann von E. Fischer als generelles Spaltungsproduct aller Proteïne nachgewiesen und als Chlorhydrat des Esters abgeschieden.

Aminopropionsäure, Alanin, zuerst aus dem Fibroin der Seide dargestellt (E. Fischer und Skita[4])).

Aminovaleriansäure, von E. Fischer (s. u.) bei der Säurespaltung isolirt, von Levene[5]) in bebrüteten Eiern gefunden.

Aminocapronsäure, Leucin[6]) wurde im Pankreas zuerst von Virchow[7]) gefunden. Später fand man es in vielen Organen, auch von Wirbellosen, und in Pflanzen.

Es entsteht regelmässig bei allen energischen Spaltungen der Eiweisskörper, der Hornsubstanz, des Elastins etc.

Leucin ist eine Aminocapronsäure, und zwar wahrscheinlich die α von der Formel[8])

$$\begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}\rangle CH \cdot CH_2 \cdot CH\langle\begin{matrix}NH_2\\COOH.\end{matrix}$$

Das pflanzliche und thierische Leucin sind wahrscheinlich stereomer, aber von derselben Constitution.

1) Dzierzgowski und Salasin, Centr. f. Phys. XV. 249 (1901).

2) Mochizuki, Hofmeisters Beitr. I. 44 (1901).

3) Spiro, Z. phys. Ch. 28. 174 (1899).

4) E. Fischer und Skita, Z. phys. Ch. 33. 177 (1901).

5) Levene, Z. phys. Ch. 35. 80 (1902).

6) Eine genaue Beschreibung und Zusammenstellung der Litteratur über Leucin s. bei Gamgee, Phys. Chem. d. Verdg. S. 244.

7) Virchow, sein Archiv VII. 580.

8) Hüfner, J. pr. Ch. (N. F.) I. S. 6. Schulze u. Likiernik, Chem. Ber. 24. 669. B. Gmelin, Beitr. z. Kenntn. d. Leucins. Diss. Tübingen 1892 (sehr ausführliches Litteraturverzeichniss).

Es ist synthetisch aus Isovaleraldehydammoniak und Blausäure erhalten worden (Hüfner l. c.). Das synthetische Product ist inactiv, das natürliche rechtsdrehend. Penicillium glaucum verzehrt aus dem racemischen Gemisch die rechtsdrehende Form und lässt nur die linksdrehende zurück. Die Zerlegung in beide optischen Componenten ist dann E. Fischer[1]) gelungen.

Isomere Leucine sind von R. Cohn[2]), Hüfner und Nencki[3]) beschrieben worden. Das gewöhnliche Leucin krystallisirt in charakteristischen Kugeln und Knollen, schmilzt bei ca. 170° und sublimirt unzersetzt in feinen, wolligen Massen. Es ist ziemlich leicht löslich in Wasser, schwer in Alkohol. Charakteristisch ist sein Phenylhydantoin und der Aethylester seines Chlorhydrates (Röhmann[4])).

Asparaginsäure wurde als Abbauproduct der Eiweisskörper gefunden von Ritthausen und Kreussler[5]) (bei pflanzlichen Proteïnen) sowie von Hlasiwetz und Habermann[6]). Bei der tryptischen Verdauung fanden sie Radziejewski und Salkowski[7]) beim Fibrin, v. Knieriem[8]) beim Kleber. Es ist eine Aminobernsteinsäure

$$\begin{array}{l} CH\left<\begin{array}{l} NH_2 \\ COOH \end{array}\right. \\ | \\ CH_2 \, . \, COOH. \end{array}$$

Leicht löslich in heissem Wasser, schwer in kaltem, unlöslich in Alkohol. Dreht links. Charakteristisch ist ihr Kupfersalz. Die inactive synthetische Asparaginsäure ist ebenso wie die Glutaminsäure von E. Fischer[9]) durch das Brucinsalz der Benzoylverbindung in die beiden optischen Componenten gespalten worden.

Glutaminsäure wurde aus pflanzlichen Proteïnen ebenfalls von Ritthausen und Kreussler (l. c.) erhalten, aus thierischen durch Salzsäure und Zinnchlorür von Hlasiwetz und Habermann (l. c.), durch Schwefelsäure von Kutscher[10]), bei der Pankreasverdauung durch v. Knieriem[8]).

Es ist eine Aminoglutarsäure

$$CH_2\left<\begin{array}{l} CH\left<\begin{array}{l} NH_2 \\ COOH \end{array}\right. \\ CH_2 \, . \, COOH. \end{array}\right.$$

1) E. Fischer, Chem. Ber. 33. 2370 (1900).
2) Cohn, Z. phys. Ch. 20. 302.
3) Nencki, J. pr. Chem. N. F. Bd. XV. 390.
4) Röhmann, Chem. Ber. 30. 1978; 31. 2188.
5) Ritthausen u. Kreussler, J. pr. Ch. N. F. III. 314.
6) Hlasiwetz u. Habermann, Lieb. Ann. **159**. 304; **169**. 150.
7) Radziejewski u. Salkowski, Chem. Ber. VII. 1050 (1874).
8) v. Knieriem, Zeitsch. f. Biol. XI. S. 198.
9) E. Fischer, Chem. Ber. 32. 2451 (1899).
10) Kutscher, Z. phys. Ch. 28. 123.

Schwer löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol. Schmelzpunkt 135—140°. Giebt ebenfalls ein charakteristisches Kupfersalz.

Serin, Aminomilchsäure ($CH_2OHCHNH_2COOH$) fast gleichzeitig von E. Fischer[1]) und Erlenmeyer[2]) synthetisirt. Bisher nur bei der Säurespaltung isolirt.

Die Diaminosäuren[3]). Der durch Phosphorwolframsäure fällbare Theil der tryptischen Zersetzungsproducte enthält mindestens drei Basen, die Kossel als Hexonbasen zusammengefasst hat: das Lysin, das Arginin und das Histidin.

Lysin wurde als Spaltproduct des Caseïns von Drechsel[4]) entdeckt und dann von ihm und seinen Schülern näher erforscht. In den tryptischen Verdauungsproducten fand es Hedin[5]). Isolirt wird es am besten als Picrat (Kossel[6])) oder als Hydantoin (Addition von Phenylcyanat und Ringschliessung durch HCl (Herzog[7])). Es ist eine Diaminocapronsäure (Ellinger[8])), da es bei der Fäulniss Cadaverin (Pentamethylendiamin) liefert

$$CH_2(NH_2) \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH\langle^{NH_2}_{COOH}.$$

Es dreht rechts. Seine inactive Modification ist von E. Fischer und Weigert[9]) synthetisch als $\alpha\varepsilon$-Diaminocapronsäure dargestellt worden.

Es bildet eine Dibenzoylverbindung (Lysursäure), deren saures Barytsalz sehr charakteristisch ist (Drechsel[10])).

Bei der Oxydation liefert es neben Blausäure und Oxalsäure normale Brenzweinsäure und wahrscheinlich Glutaminsäure (Zickgraf[11])).

Cadaverin (durch fermentative CO_2-Abspaltung aus Lysin entstanden) fand im autolysirten Pankreas Steyrer (citirt bei Emerson s. u.).

---

1) E. Fischer und Leuchs, Chem. Ber. 35. 3787 (1902).
2) Erlenmeyer, Chem. Ber. 35. 3769 (1902).
3) Genaueres über diese Körper s. b. Schulze und Winterstein, Ueb. d. bei d. Spaltg. d. Eiweissubstanzen entstehenden basischen Producte. Asher-Spiro, Ergebnisse d. Physiol. (1) I. 32 (1902).
4) Drechsel, Abbau der Eiweisskörper (zusammenfassende Arbeit) in Du Bois Arch. 1891. S. 248; ferner Chem. Ber. 25. 2454 (1892).
5) Hedin, Du Bois Arch. f. Phys. 1891. 273; Z. phys. Ch. 21. 297.
6) Kossel, Z. phys. Ch. 26. 586.
7) Herzog, Z. phys. Ch. 34. 525 (1902).
8) Ellinger, Chem. Ber. 31. 3183; Z. phys. Ch. 29. 324 (1900).
9) E. Fischer u. Weigert, Chem. Ber. 35. 3772 (1902).
10) cit. nach Cl. Willdenow, Z. phys. Ch. 25. 523.
11) Zickgraf, Chem. Ber. 35. 3401 (1902).

Ornithin ($\alpha\delta$-Diaminovaleriansäure), die Muttersubstanz des Arginins, ist von Jaffe[1]) in Hühnerexcrementen als Benzoylverbindung gefunden worden (nach Fütterung mit Benzoësäure). Es giebt bei der Fäulniss Putrescin (Tetramethylendiamin) (Ellinger[2]). E. Fischer[3]) stellte racemisches Ornithin synthetisch her. Schulze und Winterstein[4]) haben es genauer untersucht.

Ornithin selbst ist noch nicht in Verdauungsproducten gefunden worden.

Lysatinin ist eine Base, die neben Lysin zuerst von Drechsel (l. c.) aufgefunden wurde. Hedin hat dann angenommen, dass das Lysatinin wahrscheinlich nur ein Gemisch von Arginin und Lysin ist. Neuerdings neigt sich aber Siegfried[5]) wieder der Ansicht zu, dass das Lysatinin doch existirt, und eventuell leicht in das um 4 H-Atome ärmere Histidin übergeht. Ihm wurde die Formel $C_6H_3N_{13}O_2$ zugeschrieben. Seine Existenz ist demnach fraglich.

Arginin $C_6H_{14}N_4O_2$ wurde entdeckt von Schulze und Steiger[6]) in Lupinenkeimlingen (1886). Hedin wies es als Spaltproduct der Eiweisssubstanzen[7]) und der Hornsubstanz[8]), Kossel[9]) als das der Protamine nach. Kutscher[10]) erhielt es bei der künstlichen Trypsinverdauung. Ueber die Constitution geben Aufschluss die Arbeiten von Schulze und Likiernik[11]), Schulze und Winterstein[12]), Ellinger[13]) (indirect durch seine Aufklärung des Ornithins s. o.).

Das Arginin ist demzufolge als das Kreatin der 1,4 Diaminovaleriansäure (des Ornithins) aufzufassen. Seine Formel ist demgemäss

$$(NH) = C(NH_2)NH-CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH\left\langle\begin{matrix}NH_2\\COOH.\end{matrix}\right.$$

Es liefert deshalb bei der Spaltung mit Barytwasser Harnstoff und Diaminovaleriansäure (Ornithin), bei der Oxydation mit Bariumpermanganat Guanidinbuttersäure und Guanidin (Kutscher[14])).

Schulze und Winterstein[15]) haben es der Kreatinsynthese analog aus Ornithin und Cyanamid synthetisch dargestellt. Das pflanzliche Arginin ist von dem thierischen etwas verschieden.

1) Jaffé, Chem. Ber. X. 1925 (1877).
2) Ellinger, Chem. Ber. 31. 3183; Z. phys. Ch. 29. 324 (1900).
3) E. Fischer, Chem. Ber. 34. 454 (1901).
4) Schulze und Winterstein, Z. phys. Ch. 34. 128 (1902).
5) Siegfried, Z. phys. Ch. 35. 192 (1902).
6) Schulze und Steiger, Z. phys. Ch. XI. 43; Chem. Ber. XIX. 1177.
7) Hedin, Z. phys. Ch. XXI. 155.
8) Hedin, ibid. XX. 186.
9) Kossel, ibid. 22. 184 u. Kossel und Matthews, ibid. 25. 190.
10) Kutscher, ibid. 25. 195.
11) Schulze und Likiernik, Chem. Ber. 24. 2701 (1891).
12) Schulze und Winterstein, Z. phys. Ch. 23. 1; Chem. Ber. 30. 2879.
13) Ellinger, Chem. Ber. 31. 3183.
14) Kutscher, Z. phys. Ch. 32. 413 (1901).
15) Schulze und Winterstein, Chem. Ber. 32. 3191 (1899).

Das Arginin und seine Salze wurden von Gulewitsch[1]) genau untersucht. Die Base selbst krystallisirt in rosettenartigen Drusen vom Schmelzpunkt 207°. Besonders charakteristisch ist das saure Doppelsalz mit Silbernitrat.

Histidin. Histidin wurde von Kossel[2]) bei der Spaltung des Sturins durch verdünnte Schwefelsäure erhalten, von Hedin[3]) und Schulze und Winterstein dann als Spaltproduct der Eiweisskörper nachgewiesen. Bei der Pankreasverdauung fand es Kutscher.

Ueber seine chemischen Eigenschaften ist noch wenig bekannt. Es scheint die Formel $C_6 H_9 N_3 O_2$ zu haben. Es wird als Silberverbindung abgeschieden. Es giebt die Biuretreaction (Herzog)[4]).

Aromatische Spaltungsproducte.

Tyrosin[5]). Tyrosin kommt im Gegensatz zu Leucin niemals[6]) im lebenden Gewebe höherer Thiere vor, ausser bei gewissen Erkrankungen, dagegen findet es sich bei manchen wirbellosen Thieren. Es entsteht bei der Spaltung sämmtlicher Eiweisskörper mit Ausnahme des Leims.

Es ist eine Paraoxyphenylaminopropionsäure (synonym ist Oxyphenylalanin, α-Aminoparahydrocumarsäure)

$$OH\,C_6H_4 - CH_2 - CH\langle{}^{NH_2}_{COOH}.$$

Es ist von Erlenmeyer und Lipp[7]) synthetisch dargestellt worden, jedoch inactiv, und erst von E. Fischer[8]) in die optischen Componenten zerlegt worden. Es ist sehr schwer löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol, und krystallisirt in büschelförmig gruppirten Nadeln. Beim Kochen mit Millon's Reagens (Mercurinitratlösung) giebt es die für die Eiweisskörper charakteristische Rothfärbung.

Phenylalanin $C_6 H_5 \cdot CH_2 \cdot CH\langle{}^{NH_2}_{COOH}$ ist bisher nur bei der Säurespaltung erhalten worden. Es findet sich bei der Spaltung aller Eiweissstoffe (Ducceschi[9]), E. Fischer[10])).

---

1) Gulewitsch, Z. phys. Ch. 27. 178. 368.

2) Kossel, Z. phys. Ch. 22. 176. 3) Hedin, ibid. 22. 191.

4) Herzog, Z. phys. Ch. 37. 248 (1903).

5) Auch für das Tyrosin muss auf die ausführliche Darstellung bei Gamgee, l. c. S. 256, verwiesen werden.

6) Radziejewski, Virch. Arch. 36. 1. Kühne, Untersuch. physiol. Inst. Heid. I. 317.

7) Erlenmeyer u. Lipp, Chem. Ber. XV. 1544 (1882).

8) E. Fischer, Chem. Ber. 32. 2451 (1899).

9) Ducceschi, Hofm. Beitr. I. 339 (1901).

10) E. Fischer, Z. phys. Ch. 33. 151. 412 (1901).

Oxyphenyläthylamin fand Emerson[1]) bei tryptischer Verdauung von Pankreas. Es entsteht durch CO_2-Abspaltung aus Tyrosin.

Tryptophan. Unter dem Namen Tryptophan[2]) versteht man die Substanz, die bei der Spaltung der Eiweisskörper, auch durch Trypsin, vorkommt und dadurch charakterisiert ist, dass sie mit den Halogenen (Chlor, Brom) eine Violettfärbung giebt. Diese Färbung wurde zuerst von Tiedemann und Gmelin[3]) beobachtet.

Claude Bernard[4]) zeigte dann, dass diese Reaction sich erst nach Beginn der Zersetzung resp. Fäulniss zeigte, vermischte sie indessen mit der ähnlichen Reaction, die das nur bei der Fäulniss entstehende Indol resp. Naphthylamin, als welches man das Indol zuerst angesprochen hatte (vgl. auch Hemala[5])), zeigt, ein Irrthum, der dann durch Kühne[6]) aufgeklärt wurde.

Nencki[7]) untersuchte die Bromverbindungen und fand, dass mindestens zwei Körper entstehen, die wahrscheinlich der Indigogruppe angehören. Beim Schmelzen mit Kali erhielt er Pyrrol, Indol etc. Bei Untersuchung des Bromproductes erhielt Kurajeff[8]) drei verschiedene Körper. Das Chlorproduct untersuchte Beitler[9]), dem es gelang, durch Silberoxyd daraus einen chlorfreien, basischen Körper zu erhalten.

Auf einem ausserordentlich einfachen Wege gelang es dann Hopkins und Cole[10]), die Substanz in reinem und krystallisirtem Zustande zu erhalten.

Sie verwendeten dabei mit Vortheil das tryptische Verdauungsgemisch des Caseïns. Nach 7tägiger Verdauung brachten sie das filtrirte Gemisch auf einen Gehalt von 5% Schwefelsäure und fällten dann mit stark schwefelsaurem Quecksilberoxydsulfat (10 g Salz in 100 5 proc. H_2SO_4). Der entstandene gelbe Niederschlag wird mit 5% H_2SO_4 gewaschen, mit H_2S zerlegt und durch Eindampfen mit Zusatz von Alkohol das Product in krystallisirtem Zustande gewonnen. Es hat die Formel $C_{11}H_{12}N_2O_2$ und ist aller Wahrscheinlichkeit nach eine Scatolaminoessigsäure, event. Indolaminopropionsäure. Es giebt beim Erhitzen Scatol und die Pyrrolreaction. Ich kann diese Angaben von Hopkins durchaus bestätigen, ebenso die fundamentale Thatsache, dass dieses Product sehr intensiv sowohl die Adamkiewicz'sche Reaction, als auch die Tryptophanreaction giebt, während das vom Hg befreite Filtrat beide Reactionen nicht mehr giebt.

---

1) Emerson, Hofm. Beitr. I. 501 (1901).

2) Der Name rührt von Neumeister her, Z. f. Biol. 26. 329.

3) Tiedemann und Gmelin, Verdauung nach Versuchen. Heidelberg. 1826. S. 31.

4) Cl. Bernard, Compt. Rend. 1856. I. Suppl. S. 403.

5) Hemala, Krukenberg's Chem. Unters. z. wissensch. Medicin. II (1888). S. 119.

6) Kühne, Chem. Ber. VIII. 206 (1875).

7) Nencki, Chem. Ber. 28. S. 560 (1895).

8) Kurajeff, Z. phys. Ch. 26. 501.

9) Beitler, Chem. Ber. 31. 1604.

10) Hopkins und Cole, Journ. of physiol. 27. 418 (1901). S. A.

Es ist damit also das Tryptophan isolirt und das Vorhandensein eines Indolkernes bei der **normalen** Eiweissverdauung nachgewiesen, während man diesen als ein nur der Fäulniss zukommendes Charakteristicum betrachtet hat.

Das Tryptophan ist leicht löslich in Wasser, schwerer in Alkohol.

Einen bisher unbekannten aromatischen Stoff, der die Vorstufe der **Kynurensäure** beim Hunde bildet, fanden unter den tryptischen Spaltungsproducten **Glaessner und Langstein**[1]. Die Kynurensäure ist eine γ-Oxychinolincarbonsäure. Ihre Ausscheidung im Harn wird bei Verfütterung eines in Alkohol löslichen, in Aceton unlöslichen Antheils der Trypsinverdauung gegen das Normale fast verzehnfacht.

Ob in dem von **Baum**[2] und **Swain**[3] aufgefundenen Indolderivat $C_{10}H_{16}N_2O_2$, das sie **Scatosin** nennen, das auf ähnliche Weise gewonnen und als Tetrabenzoylverbindung isolirt wurde, dieser Körper vorliegt, ist noch nicht entschieden.

Ein schwefelhaltiges Abbauproduct der Eiweissstoffe ist das **Cystin**, das auch bei der Trypsinspaltung entsteht. Seine Constitution ist gleichzeitig von **Neuberg**[4] und **Friedmann**[5] aufgehellt worden. Danach ist es ein Derivat des **Cysteïns**, welches wiederum die α-**Aminothiomilchsäure** ist:

$$CH_2 \overset{(SH)}{\diagup} - CH \overset{NH_2}{\diagup} - COOH.$$

Das Cystin selbst ist das zu dem **Mercaptan** gehörige Disulfid.

α-**Pyrrolidincarbonsäure**, und zwar racemische und auch linksdrehende haben **E. Fischer** und **Levene** auch bei der tryptischen Verdauung von Eiweissstoffen gefunden.

Sie hat die Formel

$$\begin{array}{c} CH_2-CH_2 \\ | \quad\quad | \\ CH_2-CH\ .\ COOH. \\ \diagdown \diagup \\ NH \end{array}$$

Leucinimid, Dibutyldiacipiperazin

$$\begin{array}{c} NH \\ CO \diagup \quad \diagdown CH\ C_4\ H_9 \\ C_4\ H_9\ HC \diagdown \quad \diagup CO \\ NH \end{array}$$

---

1) **Baum**, Hofmeister's Beitr. III. 439 (1903).
2) **Swain**, ibid. 442.
3) **Glaessner und Langstein**, Hofm. Beitr. I. 34 (1901).
4) **Neuberg**, Chem. Ber. 35. 3161 (1902).
5) **Friedmann**, Hofmeister's Beitr. III. 1 (1902).

ist von Salaskin[1]) bei der tryptischen und auch peptischen Verdauung von Oxyhämoglobin erhalten worden.

Verschiedenheiten der tryptischen Verdauung der Eiweissstoffe und Albuminoide. Im Allgemeinen verläuft der tryptische Spaltungsprocess ziemlich gleichmässig. Nur die quantitativen Verhältnisse der einzelnen Producte sind verschieden. Die Gelatine wird sehr leicht von Trypsin angegriffen und deshalb ihre Anwendung von Fermi[2]) zum Nachweis des Trypsins vorgeschlagen. Dagegen findet eine Spaltung des Leims durch Trypsin nur in sehr beschränktem Masse statt; es entsteht lediglich etwas Leucin (Reich[3]).

Die Trypsinverdauung des Caseïns wurde zuerst von Sebelien untersucht. Biffi[4]) fand dann, dass das Caseïn bis auf einen geringen, fast phosphorfreien Rückstand verdaut wird. Er fand ferner ziemlich viel Tyrosin, Caseïnalbumosen und Caseïnantipepton. Der Phosphor wird zum Theil als Phosphorsäure abgespalten, zum Theil in anderer, fester gebundener Form. Ueber die tryptische Verdauung der Nucleoproteïde liegt eine genauere Untersuchung von Umber[5]) vor, der aus reinem Pankreasnucleoproteïd neben Guanylsäure die üblichen Spaltungsproducte der Eiweissstoffe, nämlich Albumosen, Peptone, Leucin und Tyrosin auffand (Näheres s. b. Pepsin).

Ein specifisch auf Paracaseïn wirkendes proteolytisches Ferment, dem sie den höchst unpassenden Namen Galactase gegeben haben, wollen Babcock und Russell[6]) in reifendem Käse aufgefunden haben. Es soll am besten in schwach alkalischen Medien wirken, dem Trypsin ähnlich, aber nicht damit identisch sein.

Es bildet sehr bald Ammoniak und soll den tryptischen Bacterienfermenten nahe stehen. Nach Freudenreich[7]) wirkt es nur sehr schwach spaltend. Seine wirkliche Verschiedenheit vom Trypsin ist noch durchaus nicht sicher erwiesen. Auch Wender[8]) hält die Galactase nicht für ein besonderes Ferment.

Die Autolyse der Gewebe. An die proteolytischen Fermente schliesst sich am besten die Besprechung einer merkwürdigen Erscheinung an, bei der ähnliche Wirkungen auftreten, nämlich die sog. Selbstverdauung der Organe, die besonders von Salkowski und

1) Salaskin, Z. phys. Ch. 33. 592 (1901).
2) Fermi, Maly's Jb. 1892. 592.
3) Reich, Z. phys. Ch. 34. 121 (1902).
4) Biffi, Virch. A. 152. 130.
5) Umber, Z. f. klin. Med. 43. Heft 4 5 (1901) S.-A.
6) Babcock und Russell, C. f. Bact. (2) VI. 22. 45. 79 (1900).
7) Freudenreich, Milchztg. 29. 245 (1900).
8) Wender, Oesterr. Chem. Ztg. 1903. 1. ref. Biochem. Ctrbl. 1903. Nr. 681.

[illegible]

[illegible] Nucleinbasen [illegible] Eiweissstoffen [illegible]

[illegible]
waren.

Auch [illegible]

Die Annahme [illegible] Schwiening [illegible] selben Resultate [illegible].

Auch [illegible] Kohlehydrate [illegible] basen [illegible] und glaubt annehmen zu dürfen, dass sie sich [illegible] aus Nucleoproteiden durch Spaltung bilden. Ferner fand er im Hauptversuch Albumosen und Leucin. Von der tryptischen Verdauung mit Pankreaspulver unterschied sich dieser Process dadurch, dass bei der letzteren Pepton und Tryptophanreaktion nachweisbar waren, die bei der Selbstverdauung fehlen, und dass die tryptische Verdauung mehr organische Substanz löste.

Fluornatrium und Thymol erwiesen sich zur Conservirung weniger geeignet wie Chloroform. Alkali hindert die Autodigestion. Schwer zu [illegible] die Wirkung von Säuren ist schwer zu erkennen, sie scheinen [illegible] jedenfalls in geringer Concentration nicht zu stören.

Jacoby[6] hat dann die Autolyse der Leber genauer studirt.

Als wichtigstes Kennzeichen fand er eine beträchtliche Vermehrung des durch Magnesia austreibbaren Stickstoffes (Ammoniak), die in vorher gekochtem Saft unterblieb. Es findet also bei der Autolyse im Gegensatz zur Trypsinverdauung (s. o.), eine Lockerung von Kohlenstoff-Stickstoff-Bindungen statt. Die Angaben der Salkowski'schen [illegible]

---

1) Salkowski, Z. phys. Ch. XIII.
2) Derselbe, Z. f. klin. Med. XVII. Suppl.
3) Salomon, Du Bois Arch. f. Phys. 1881 [illegible]
4) Schwiening, Virch. Arch. 136 (1894).
5) Biondi, Virch. Arch. 144. 373 (1896).
6) Jacoby, Z. phys. Ch. 30. 149 (1900).

dass Albumosen und Peptone fehlen, bestätigte er. Neben Leucin und Tyrosin fand er auch Glycocoll, sowie Tryptophanreaction.

Das Endotrypsin der Leber ist durch Sättigung mit Ammonsulfat oberhalb 80 % aussalzbar.

Es spaltet auch Hippursäure, wie Schmiedeberg's[1]) Histozym aus der Leber, und Harnstoff.

Die Autolyse findet auch im lebenden Organe statt.

Ganz ähnliche autolytische Vorgänge finden sich nach Jacoby[2]) bei der acuten gelben Leberatrophie nach Phosphorvergiftung.

Hedin und Rowland[3]) stellten aus Milz einen stark sauer reagirenden Presssaft her und constatirten bei Digestion eine Zerlegung des Eiweissstickstoffes, besonders in saurer Lösung. Auch Fibrin wird durch den Saft gespalten. Aehnlich verhielten sich Lymphdrüsen, Nieren, Leber, schwächer wirkte Muskelsaft. Im Blute konnten sie nichts finden.

Jacoby[4]) fand dann auch in der Lunge ähnliche Processe. Die Autolyse in ihrer grossen Bedeutung für die Pathologie der Lungen ist von Friedrich Müller[5]) genau untersucht worden.

Pneumonische Lungen mit grauer Hepatisation, unter Toluol sich selbst überlassen, zerfallen schnell. Es bildet sich Leucin, Tyrosin, Lysin, wahrscheinlich Arginin, ferner Purinbasen. Die Aminosäuren gehen wahrscheinlich auch in den Harn über (Simon[6])). Ausserdem bilden sich Milchsäure und wahrscheinlich Essigsäure. Das Ferment ist an die Leukocysten gebunden und wird bei ihrem Zerfall frei. Ganz ähnlich verhält sich Eiter. Das Ferment löst auch Fibrin etc. Tuberculöse Käsemassen widerstehen der Autolyse in hohem Masse.

Autolytische Vorgänge in der Thymusdrüse wurden von Kutscher[7]) studirt. Er fand als Spaltungsproducte ausser Purinbasen und Thymin nur Lysin und Ammoniak. Namentlich fehlten Arginin und die Aminosäuren.

Vogel[8]) fand autolytische Vorgänge in frischen Muskeln; sie traten auch im lebenden Körper ein, wenn er die Bauchaorta ab-

1) Schmiedeberg, Arch. exp. Path. XIV (1881).
2) Jacoby, Z. phys. Ch. 30. 174 (1900).
3) Hedin und Rowland, Z. phys. Ch. 32. 341 (1901). Dies., ibid. 531.
4) Jacoby, Z. phys. Ch. 33. 126 (1901).
5) Fr. Müller, Verh. naturf. Ges. Basel XIII. 308. S.-A. Ders. XX. Congr. f. inn. Med. Wiesbaden 1902. S.-A.
6) Simon, Arch. f. klin. Med. 70. 604 (1901).
7) Kutscher, Z. phys. Ch. 34. 114 (1902).
8) Vogel, Arch. f. klin. Med. 72. 291. S.-A.

klemmte, ebenso bei Strychninvergiftung. Dann liess sich aus den Muskeln der hinteren Extremitäten Saft auspressen, der aus frischen Muskeln nicht erhältlich ist. Die Saftbildung in den Muskeln ist also ein autolytischer Process, wie schon Salkowski und seine Schüler angenommen hatten (s. o.).

Es bilden sich dabei neben den üblichen Spaltungsproducten noch Kreatin und Harnstoff.

Aehnliche Vorgänge spielen sich auch an Fischmuskeln bei der Einsalzung ab, die von Schmidt-Nielsen[1]) näher studirt worden sind.

Bei der Selbstverdauung von Darmschleimhaut fanden Kutscher und Seemann[2]) in ganz analoger Weise wie bei der Thymus viel Ammoniak, Uracil und Thymin, Asparaginsäure, Tyrosin, Lysin Histidin und wieder kein Arginin.

Umber[3]) fand in Exsudaten Albumosen, Leucin, Tyrosin, Spuren von Diaminosäuren, dagegen keine Peptone. Es gelang ihm nachzuweisen, dass in diesen Exsudaten ein Ferment wirksam ist, das nach dem Entfernen aus dem Körper unter Toluolzusatz eine weitere Aufspaltung der Eiweisssubstanzen vollzieht, und zwar unter der charakteristischen Erscheinung der Autolyse, nämlich dem Entstehen relativ grosser Mengen von Ammoniak.

Die Organfermente scheinen ziemlich specifisch zu sein. Jacoby[4]) fand, dass Lebersaft die Eiweisssubstanzen der Lunge nicht angreift, aber die Albumosen des Lungensaftes weiter spaltet. Auf diese scheint die Wirkung also weniger specifisch zu sein.

Autolytische Vorgänge in malignen Tumoren fand Petry[5]). Das krankhafte Gewebe zerfällt schneller als das Muttergewebe.

Von den Spaltproducten konnte er ausser Purinbasen (vorwiegend Hypoxanthin) noch Leucin, Tyrosin und Lysin finden.

In einer Leber, die einem Falle von acuter gelber Atrophie entstammte, fand Taylor[6]) Leucin und Asparaginsäure, kein Phenylalanin und keine Hexonbasen.

Emerson[7]) fand, dass in zerfallenden Carcinomen Aminosäuren und Diaminosäuren entstehen, die Salzsäure binden und dadurch das HCl-Deficit in carcinomatösem Magensaft mit bewirken können.

---

1) Schmidt-Nielsen, Hofm. Beitr. III. 266 (1902).
2) Kutscher und Seemann, Z. phys. Ch. 34. 528; 35. 432 (1902).
3) Umber, Münch. med. Woch. 1902. Nr. 28. S.-A.
4) Jacoby, Hofmeister's Beitr. III. 446 (1903).
5) Petry, Hofmeister's Beitr. II. 94 (1902).
6) Taylor, Z. phys. Ch. 34. 580 (1902).
7) Emerson, Arch. f. klin. Med. 72. 415 S.-A.

… …spaltung der Eiweisssubstanzen voll- … complicirten Fettderivate, des Lecithins … auch Cholin auftreten (Müller l. c.). … Milchsäure und Bernsteinsäure, wohl …rscheinlich Wasserstoff und Schwefel- … . Wir werden darauf bei der Milch- …kommen.

… …sters Beitr. II. 261 (1902).

Elftes Capitel.

Proteolytische Pflanzenfermente.

Schon früh hatte man in keimenden Pflanzentheilen stickstoffhaltige lösliche Stoffe aufgefunden, die sich dann als Abbauproducte der Eiweissspaltung durch chemische oder fermentative Einwirkungen herausstellten.

Das erste war das Asparagin, das Vauquelin und Robiquet[1]) im Spargel fanden, und die Glutaminsäure, die Schulze und Barbieri zuerst in Kürbiskeimen fanden, neben Asparagin und Ammoniak. Später wurde dieses Forschungsgebiet besonders von E. Schulze[2]) und seinen Schülern bearbeitet.

Als dann Gorup-Besanez[3]) in gekeimten Wicken neben Asparagin und Glutaminsäure auch Leucin gefunden hatte, sowie Schulze in Lupinenkeimlingen Peptone, da lag der Gedanke sehr nahe, dass auch in den Pflanzenkeimen, die ja ähnlich dem thierischen Organismus ohne Assimilation sich von aufgespeicherten Nährstoffen erhalten müssen, neben den längst bekannten diastatischen Fermenten auch proteolytische vorkommen. In der That gelang dann kurz darauf Gorup-Besanez[4]) die Isolirung eines diastatischen und proteolytischen Fermentes aus Wickenkeimlingen, und ferner aus Hanf, Leinsamen, Gerste.[5]) In letzteren fand er aber kein Leucin und Tyrosin, sondern nur Peptone. Aus Lupinenkeimlingen konnte er indessen kein Ferment isoliren. Dagegen erhielt Green[6]) aus keimenden Samen von Lupinus hirsutus ein Enzym, das „sogenannte“ Peptone, Leucin

1) Citirt nach Piria, Annal. d. chim. et. phys. (III.) 22. S. 160.

2) s. Schulze und seine Schüler: Landwirthsch. Jahrb. V. 821; VI. 681; VII. 411; IX. 689 (dort Litteratur).

3) v. Gorup-Besanez, Chem. Ber. VII. 146 (1874).

4) Derselbe, Chem. Ber. VII. 569. 1478.

5) Derselbe, Chem. Ber. VIII. 1510; s. a. Sitzb. d. Erlanger Phys.-med. Soc. vom 8. XI. 1874.

6) Green, Philos. Transact. Royal Soc. 178. 39 (1887).

und Tyrosin lieferte, aber nur in saurer Lösung wirkte. In den ruhenden Samen nimmt er das Vorhandensein eines Zymogens an.

Aus den Cotyledonen gekeimter Gartenbohnen gelang es van der Harst[1]), ein ähnliches Ferment zu isoliren. In den Blättern einiger Dicotyledonen hat Poehl[2]) pepsinähnliche Fermente gefunden. Neumeister[3]) widerlegte die Angaben von Krauch[4]), der überhaupt keine Fermente gefunden hatte, konnte aber auch das Vorkommen in ungekeimten Wicken und Lupinen (Green l. c.) nicht bestätigen. Doch wurde die Zuverlässigkeit seiner Methode, Absorption der Enzyme durch frisches Blutfibrin, von Frankfurt[5]) angezweifelt. Sonst aber fand Neumeister vielfach in Pflanzen proteolytische Fermente. Hansen[6]) fand in Wicken kein Enzym. Green[7]) entdeckte es noch in keimenden Samen von Ricinus communis, Daccomo und Tommasi[8]) in Anagallis arvensis. In zahlreichen Pflanzen und Pflanzentheilen, auch Wurzeln, Knollen etc. fanden Fermi und Buscaglioni[9]) proteolytische Fermente, Soave[10]) auch in Samen, deren Entwicklung durch Aether und Chloroform aufgehoben war.

Ein fleischauflösendes Ferment soll nach Scheurer-Kestner[11]) beim Brodbacken entstehen.

Fernbach und Hubert[12]) fanden, dass Malzextract nach der Filtration durch Chamberlandfilter Gelatine verflüssigt. Sie konnten das Enzym durch Alkohol fällen. Bei höherer Temperatur (bis 60°) verlief die Einwirkung schnell, bei niederer langsam, führte aber zu tieferer Spaltung, indem die mit Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen (Peptone) sich verminderten. Zu ähnlichen Resultaten gelangten Windisch und Schellhorn[13]) mit chloroformversetzten Malzextracten.

Weis[14]) fand, dass ausser pflanzlichen Proteïnen auch Caseïn an-

1) van der Harst, Naturforscher XI. S. 108 (1878).

2) Poehl, Ueber das Vork. u. d. Bildg. von Peptonen etc. Diss. Dorpat 1882. s. Biol. Centralbl. III. 252. Chem. Ber. XIV. 1355 (1881).

3) Neumeister, Z. f. Biolog. 30. 447 (1897).

4) Krauch, Landwirthsch. Versuchsstat. 23. 78 (1879). 27. 303 (1882).

5) Frankfurt, Landwirthsch. Versuchsstat. 47. 449 (1896).

6) Hansen, Arb. a. d. botan. Inst. Würzburg. III. 281.

7) Green, Proc. Royal Soc. 48. 370.

8) cit. v. Green, Ann. of. bot. VII. 112. s. a. Maly's Jb. 1892.

9) Fermi und Buscaglioni, C. f. Bact. (II.) V. 125 (1899).

10) Soave, Le stazioni sperimentali agrarie 32. 553 (1899); cit. n. Butkewitsch (s. u.).

11) Scheurer-Kestner, C. R. 90. S. 369.

12) Fernbach und Hubert, C. R. 130. 1783 (1900).

13) Windisch und Schellhorn, Wsch. f. Brauerei XVII. H. 24—29. (1900).

14) Weis, Z. phys. Ch. 31. 79 (1900).

gegriffen wird. Das Enzym verträgt die Erwärmung beim Darren des Malzes, wirkt also noch beim Brauprocess.

Butkewitch[1]) studirte die Selbstzersetzung gekeimter Samen unter Thymolzusatz und fand eine beträchtliche Verminderung des durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffs. Er konnte ferner Leucin und Tyrosin, dagegen kein Asparagin nachweisen. Die Bildung von Hexonbasen hat er wahrscheinlich gemacht. Auch Bokorny[2]) fand proteolytische Enzyme in keimenden Samen.

Primäre Phosphate sollen nach Fernbach und Hubert[3]) fördernd, secundäre hemmend wirken.

Nach Harlay[4]) bilden diese Enzyme Tyrosin, sind also trypsinähnlich.

Papayotin. In den Früchten und dem Milchsafte des Melonenbaums, Carica papaya, hat man schon frühzeitig einen Stoff gefunden, der eine energische Wirkung auf Fleisch hat, dasselbe mürbe und weich macht. Er wurde deshalb auch von den Eingeborenen der Antillen und Brasiliens als kulinarisches Hilfsmittel angewendet.

Die älteste Nachricht darüber stammt von Griffith Hughes[5]) aus dem Jahre 1750, sowie von Browne[6]) 1756. Ausführlichere Arbeiten über die botanische Kenntniss von Carica papaya finden sich bei Hooker[7]) und Wight[8]). Dann hat namentlich Wittmack[9]) sich mit der Pflanze beschäftigt, der auch das Ferment untersuchte.

Dies proteolytische Ferment aus dem Pflanzenreich, das dem Trypsin ähnlich ist, wurde wohl zuerst von Moncorvo[10]) aus dem Saft von Carica papaya dargestellt, der es Caricin nannte.

Beckolt[11]) hat die Pflanze und ihre Samen genau beschrieben und auch auf die eiweisslösende Kraft des Milchsaftes hingewiesen,

---

1) Butkewitsch, Z. phys. Ch. 33. 1 (1901).
2) Bokorny, Pflüg. Arch. 90. 95 (1902).
3) Fernbach u. Hubert, C. R. 131. 293 (1901).
4) Harlay, C. R. 131. 623 (1901).
5) *Hughes, Natural history of Barbadoes. 1750. Bd. VII. S. 181.
6) *Browne, Civil and natural hist. of Jamaica. 1756. S. 160.
7) *Hooker, Botan. Magazine New Ser. III. 2898 (1828).
8) *Wight, Illustr. of. Jnd. Bot. II. 1850. S. 34 (No. 4—8, citirt nach Wittmack, s. u.).
9) Wittmack, Sitz.-Ber. d. Ges. naturforsch. Freunde. Berlin 1878. S. 40. Dort die ganze ältere Litteratur über Carica papaya und seine Wirkung im Allgemeinen.
10) *Moncorvo, Journal de Thérapie. VII. 6 (1880).
11) Beckolt, Zeitschr. d. allg. österr. Apothekervereins. XVII. 361. 373. Pharmaceutic. Journal IIIe Sér. X. 343. 383.

er versuchte dieses Ferment zu isoliren und nannte es Papayotin. Ferner hat Wittmack (l. c.) auch die chemische Wirksamkeit von Früchten und Milchsaft geprüft.

Wurtz[1]) hat es dann zuerst genauer untersucht, es auch im Stamm und Blättern der genannten Pflanze nachgewiesen und ihm den Namen Papaïn gegeben, der heute neben Papayotin allgemein gebräuchlich ist. Wurtz[2]) hat es aus dem wässerigen Extract des Saftes mit Alkohol gefällt, durch weitere Proceduren gereinigt und dann näher untersucht. Es gab die üblichen Reactionen der mit Eiweissstoffen verunreinigten Fermente.

Das Papaïn des Handels löst sich nach Martin[3]) nicht völlig in destillirtem Wasser.

Martin (l. c.) fand die Reactionen von Wurtz im Allgemeinen bestätigt. Sein Wasserextract enthielt ein Albumin, ein Globulin und zwei Albumosen. An eine von diesen ist das Ferment gebunden, von der es Martin[4]) nicht trennen konnte.

Er erhielt diese Albumose durch Extraction mit Glycerin und Fällung mit Natrium- und Magnesiumsulfat, oder Alkohol-Aether. Er nennt sie α-Phytalbumose. Sie ist identisch mit dem „Pflanzenpepton", der Hemialbumose von Vines. Sie ähnelt den Protalbumosen Kühne's während die β-Phytalbumose mehr den Heteroalbumosen nahesteht. Das Globulin ist dem Myosin und Paraglobulin verwandt.

Harlay[5]) untersuchte die Einwirkung von Wärme auf Papaïn. Er fand, dass es trockenes Erhitzen auf 100⁰ verträgt; in Lösung wird es bei 75⁰ geschwächt und bei 82,5⁰ zerstört.

Ueber die Wirkung des Papayasaftes sind zuerst von Roy[6]) Versuche angestellt worden, der zeigte, dass er Eiweissstoffe löst, ohne jedoch diesen Process als Verdauung zu bezeichnen; später hat dann Albrecht[7]) ebenfalls mit dem Saft Versuche gemacht.

Wurtz[8]) schrieb ihm fibrinverdauende Kraft in neutraler Lösung zu, indem er sich erst fest an das Fibrin bindet, dann erst es löst; es entstanden dabei Peptone, Leucin, kein Tyrosin. Rossbach[9]) gab irr-

1) Wurtz und Bouchut, C. R. 89. S. 425 (1879).
2) Wurtz, C. R. 90. 1379 (1880).
3) Martin, [illegible] of Physiol. V. S. 313 (1884).
4) Martin, [illegible] Journ. 1885. S. 50. Journ. of Physiol. VI. 336.
5) Harlay, Journ. Pharm. Chim. (6.) XI. 268; Chem. Centralbl. 1900. I. 918.
6) [illegible] Journ. 1874, cit. n. Martin, l. c.
7) [illegible] f. Schweizer Aerzte. X. S. 680. 712 (1880).
8) [illegible]
9) [illegible] C. R. 91. S. 787.
[illegible] 1883. 527.

thümlicherweise an, dass Papaïn in der Kälte ebenso energisch wirke, als in der Wärme, was Martin widerlegt. Er bestätigt die Angabe von Brunton und Wyatt[1]) gegen Albrecht und Rossbach, dass sauere Reaction die Wirkung aufhebt. Martin[2]) verwendete ausser Fibrin getrocknetes coagulirtes Eieralbumin.

Das Ferment reagirt auch in schwach alkalischer Lösung, am besten in $^1/_4$ proc. Sodalösung (Martin l. c.).

Weeg[3]) findet die beste Wirkung in neutraler Lösung, HCl hindert, ebenso Alkalescenz; dagegen finden Hirschler[4]), Sittmann[5]) Beförderung durch schwache Säuren, Hinderung durch Alkali, Chittenden[6]) gleiche Resultate in neutraler, schwach alkalischer und schwach saurer Lösung. Hirsch[7]) hingegen findet wieder günstige Wirkung eines sogar bis 0,2 proc. HCl-Gehaltes. In einer solchen Lösung wurde Fibrin ebenso schnell wie von Pepsinsalzsäure gelöst. 1 proc. Sodalösung hebt die Fermentation auf.

Bei der Verdauung durch Papaïn entsteht zunächst ein Globulin, das dann peptonisirt wird. Die Peptone liessen sich im Dialysat nachweisen, neben Leucin; Tyrosin wird nur in geringer Menge gebildet.

Später hat Martin[8]) auch die Proteïne des Saftes selbst der Verdauung unterworfen, was auch Wurtz schon gethan hatte. Globulin und Albumin gehen erst in β-Phytalbumose, dann in peptonartige Körper über, ebenso die α-Phytalbumose. Dann entstehen Leucin und Tyrosin.

Chittenden[9]) hat die Verdauungsproducte dann quantitativ auf Deuteroalbumose und Peptone untersucht. Er findet bei reichlicherer Papayamenge ein relatives Anwachsen der Peptone.

Nach den modernen Methoden hat dann Emmerling[10]) die Einwirkung von Papayotin auf Blutfibrin untersucht. Er fand neben Albumosen und Peptonen, die er nicht näher prüfte, Tyrosin, von Hexonbasen nur geringe Mengen Arginin, von Aminosäuren: Glycocoll, Glutaminsäure, Alanin, Leucin und Asparaginsäure, daneben mit grosser

1) Brunton und Wyatt, Practitioner 1880. 301, cit. n. Martin.
2) Martin, Journ. of Phys. V. 220.
3) Weeg, Ueber Papaïn. Diss. Bonn 1885.
4) Hirschler, Ungar. Arch. f. Med. I. 341. Maly's Jb. 1892. 19.
5) Sittmann, Münch. med. Woch. 1893. 548.
6) Chittenden, Transact. of the Connectic. Acad. of Arts and Sciences. 1892. Bd. IX, cit. in Americ. Journ. of Med. Science. 1893. S. 452.
7) Hirsch, Therap. Monatsh. 1894. 609.
8) Martin, Journ. of physiol. VI. 355.
9) Chittenden, Americ. Journ. of physiol. I. 634 (1898).
10) Emmerling, Chem. Ber. 35. 695. (1902).

Wahrscheinlichkeit Phenylalanin; dagegen Pyrrolidincarbonsäure und Aminovaleriansäure nicht mit Sicherheit. Die Menge der reinen Stoffe war recht gering; trotz grosser Mengen Papayotins und langer Zeit der Verdauung scheint diese also unvollkommen zu verlaufen und viel Albumosen und Pepton zu restiren.

Lebendes Protoplasma wird von Papaïn nicht angegriffen, es ist völlig ungiftig(?), bei subcutaner Injection entstehen leichte locale Erscheinungen (Rossbach[1]), dagegen soll es Eingeweidewürmer tödten (Tussac)[2])

Therapeutisch hat man das Papaïn und ähnliche Präparate aus den Früchten der Carica papaya (z. B. Papaïn Reuss) einerseits zur Lösung diphtheritischer Membranen[3]), andererseits als Hilfsmittel bei der Verdauung, namentlich bei Salzsäuremangel im Magen verwendet, doch mit zweifelhaften Erfolgen, besonders Sittmann[4]), Hirsch[5]), Osswald[6]), Grote[7]).

Auch zur künstlichen Peptonisirung des Fleisches wird Papaya im Grossen verwendet, so bei dem Antweiler'schen[8]) und Cibil'schen[9]) Fleischpepton.

Ein dem Papaïn ähnliches Ferment haben Wittmack[10]), Bouchut[11]) aus dem Saft des Feigenbaumes Ficus Carica und macrocarpa und ein allerdings mehr pepsinähnliches proteolytisches Ferment Chittenden[12]) aus dem Ananassaft dargestellt, das er Bromelin nennt. Hansen[13]) hat das pepsinähnliche Ferment von Ficus Carica genauer untersucht und Hemi- und Antialbumose dargestellt. In anderen Milchsäften, z. B. von Ficus elastica, Chelidonium, Euphorbiaceen fand Hansen keine proteolytischen Enzyme. Green[14]) fand ein solches in den Früchten von Cucumis utilissimus, sowohl im Saft als im Pericarp. Es wirkt am besten in schwach alkalischen Medien, ist also trypsinähnlich.

1) Rossbach, Z. f. klin. Med. 1883. 527.
2) Tussac, Flore médic. des Antilles. Bd. III, citirt bei Wittmack, l. c.
3) Rossbach, Berl. klin. Woch. 1881. S. 133.
4) Sittmann, Münch. med. Woch. 1893. 548.
5) Hirsch, Therap. Monatsh. 1894. S. 609.
6) Osswald, Münch. med Woch. 1894. S. 665.
7) Grote, Deutsche med. Woch. 1896. S. 474.
8) J. Munk, Therap. Monatsh. 1888. S. 276.
9) Rosenheim, Krankh. d. Speiseröhre und d. Magens. 1891. S. 134.
10) Wittmack, Vers. d. Naturf. u. Aerzte. 1879. S. 222.
11) Bouchut, C. R. 91. 67 (1880).
12) Chittenden, Journal of Physiol. XV. 249.
13) Hansen, Arb. a. d. botan. Inst. Würzburg. III. S. 268.
14) Green, Ann. of Botany. VI. (1892.) 195.

Noch mehr dem thierischen Stoffwechsel nähern sich die sogen. **fleischfressenden Pflanzen.**[1])

Sie haben die Fähigkeit, thierisches Eiweiss für sich zu verwenden, und so stand es zu erwarten, dass man aus ihnen proteolytische Enzyme gewinnen könne.

Die erste Mittheilung über die eiweissverdauende Kraft der Drüsen von Nepenthes machte Hooker[2]), der aber geneigt war, weniger dem Secret als anderen Faktoren, hauptsächlich Bacterien die Wirksamkeit zu vindiciren. Aehnlich Darwin[3]) bei Dionaea.

Mit der Drosera rotundifolia experimentirten zuerst Rees und Will[4]). Sie stellten Glycerinextracte aus Blättern her und erhielten eine schwach saure Flüssigkeit, die peptonisirend wirkte, namentlich bei Zusatz von verdünnter HCl. Aehnliche Resultate erzielte v. Gorup-Besanez[5]) bei Nepenthes und fast gleichzeitig Lawson Tait[6]) und Vines[7]) bei Nepenthes hybridus und gracilis, ersterer an den Blättern und dem Safte selbst, letzterer auch in Glycerinextracten. v. Gorup-Besanez fand bei Reizung der Drüsen einen sauren, stark digestiven Saft, bei Ruhe einen neutralen wenig activen, der aber durch Zusatz von verdünnter HCl wirksam wurde. Er wies in der Flüssigkeit Peptone nach. Auch Hansen[8]) fand bei Nepenthes proteolytisches Enzym. Vines hat auch die Existenz eines Zymogens sehr wahrscheinlich gemacht. Bei Sarracenia fand er kein Ferment.

Ganz analoge Resultate fanden sich auch bei anderen Insectivoren. Canby[9]) beobachtete Lösung von Fleisch bei Dionaea muscipula, die sogar die Auflösung eines ziemlich grossen Myriapoden zu Stande brachte.

Cohn[10]) machte ähnliche Beobachtungen an Aldrovandia vesiculosa und Utricularia vulgaris, Canby[11]) an Darlingtonia Californica.

---

1) s. darüber die zusammenfassende Arbeit von Pfeffer, Landwirthsch. Jahrbücher. VI. 969 (1877).

2) Hooker, Adress. British Association, ref. Nature. X. 366.

3) Darwin, Insectivorous Plants. II. Aufl. 1875.

4) Rees und Will, Botanische Zeitg. 29. X. 1875; s. a. Sitzb. d. Erlanger Phys. med. Soc. 1875. Bd. VIII. 13.

5) v. Gorup-Besanez, Chem. Ber. IX. 673 (1876).

6) Lawson Tait, Nature. XII. 251 (1875).

7) Vines, Journal of anat. and physiol. XI. 124.

8) Hansen, Arb. a. d. botan. Inst. Würzburg. III. 265.

9) Canby, Oesterr. botan. Ztschr. XIX. 77.

10) Cohn, Beiträge z. Biol. d. Pflanzen. I. 3. S. 71 (1875).

11) Canby, Oesterr. botan. Ztg. XXV. 287.

Besonders eingehend in zahlreichen Abhandlungen beschäftigte sich mit dieser Frage Morren[1]), der an Drosera und Pinguicula arbeitete. Er war anfangs nicht von der Identität dieses Vorganges mit Verdauungserscheinungen überzeugt, hat sich aber später zu dieser Anschauung bekehrt und ist dann sehr energisch dafür eingetreten.

Angegriffen wurde die Lehre von den Pepsinen der Insectivoren von Dubois[2]) für Nepenthes, der bei Luftabschluss keine Wirkung erzielen konnte, sondern nur bei Zulassung von Bacterien (allerdings, da der Extract nur „légèrement acide“ war, und er keine weitere Salzsäure zusetzte, nicht sehr verwunderlich). Dann von Tischutkin[3]), der in geschlossene Schläuche Eiweisswürfel einführte und bei der spontanen Oeffnung keine Wirkung wahrnehmen konnte, vielmehr die Wirkung ausschliesslich auf Bacterien zurückführte. Dagegen wenden sich wieder Goebel[4]) und Vines[5]), der in seinen neuen Versuchen durch einige Cubikcentimeter einer 2proc. Blausäure die organisirten Fermente beseitigte und unter diesen Bedingungen seine früheren Resultate bestätigen konnte. Im Verdauungsproduct fand sich Leucin, aber keine echten Peptone. Es scheint also speciell das Nepenthesenzym ähnlich dem Papaïn eine Mittelstellung zwischen Pepsin und Trypsin einzunehmen. Es wirkt mehr dem Trypsin ähnlich aber in saurer Lösung und ist, auch gegen Alkalien (Vines l. c.) sehr beständig.

Proteolytische Fermente in Kryptogamen. Auch in Pilzen kommen proteolytische Fermente vor. Es fanden sie Poehl[6]) in Penicillium, Bourquelot und Herissey[7]) in Aspergillus niger. In anderen Pilzen fanden sie ein Ferment, das zwar kein Fibrin oder Albumin löst, aber Caseïn.[8]) Auch Malfitano[9]) fand in Aspergillus ein isolirbares Enzym, das in saurer Lösung wirksam war.

Ein tryptisches Ferment fand in Pilzen (Agaricus etc.) Hjort[10]). [illegible] am besten in neutraler Lösung wirkt und Leucin, Tyrosin und

1) Morren u. A., Bull. de l'acad. de scienc. d. Belgique. IIe Sér. 39. 870; [illegible] 1010; 42. 1019.

2) Dubois, C. R. 111. 315 (1890).

3) Tischutkin, ref. Bot. Centralbl. 50. 304 (1892).

4) Goebel, Pflanzenbiol. Schilderung. II. 173 (1893).

5) Vines, Annals of botany. XI. 563 (1897); XII. 545 (1898).

6) Poehl, Biolog. Centralbl. III. 252.

7) Bourquelot, Bull. de la soc. de mycolog. d. France. IX. 230. S.-A. Bourquelot und Herissey, C. R. 127. 666. Bull. soc. mycol. XV. [illegible]

9) Malfitano, Annal. Inst. Pasteur. XIV. 60 (1900).

10) Hjort, Centralbl. f. Physiol. X. 192 (1896).

Tryptophan erzeugt. In Schimmelpilzen fand auch Schäffer[1]) proteolytische Fermente.

In Fuligo septica fand Krukenberg[2]) ein proteolytisches Ferment. Ein Caseïn erst coagulirendes, dann lösendes Secret fanden in einer parasitischen Streptothrixart, der Oosporaform des Microsporum Bodin und Lenormand[3]). Diese „Casease“ löste auch Gelatine und andere Eiweissstoffe, ist also wohl ein proteolytisches Ferment wie die gewöhnlichen.

Auch aus Bacterien sind vielfach protheolytische Fermente isolirt worden[4]), die zum Theil analog den Toxinen der pathogenen Mikroorganismen direct in die Culturflüssigkeiten übergehen, und durch Filtration mittelst Porzellanfilter isolirt werden können, theils fester gebunden sind und z. B. durch Tötung der Bacterien beim Erhitzen erhalten werden können, analog der Hefeinvertase, so aus Anthrax (Hankin[5])) Vibrio Koch (Cholera) (Bitter[6])) und anderen Vibrionen (Macfadyen[7]), Fäulnissbacterien (Hüfner[8]) u. A.). Brunton und Macfadyen[9]) haben aus den gelatineverflüssigenden Bacterien proteolytische Enzyme isoliren können, die durch Säuren in ihrer Wirkung gehindert werden. Wood[10]) hat aus verschiedenen Bacterien etwas differente Enzyme erhalten, besonders im Verhalten gegen Säuren. Vignal[4]) hat aus Bacillus mesentericus vulgatus die verschiedenartigsten Enzyme isoliren können.

Bei Sauerstoffabschluss sollen nach Liborius[11]) keine Enzyme abgesondert werden. Nach Fermi[12]), der die tryptischen Bacterienfermente gründlich untersucht hat, wirken sie nur eiweisslösend, nicht peptonisirend. Er erhielt sie auch auf eiweissfreien Nährböden. Nach seinen Angaben verhalten sich die Fermente der einzelnen Bacterien in fast jeder Beziehung höchst verschieden. Die der Vibrionen sind am widerstandsfähigsten, z. B. auch gegen höhere Temperaturen.

---

1) Schäffer, Ferm. i. Schimmelpilzen. Diss. Erlangen 1900.
2) Krukenberg, Unters. phys. Inst. Heidelb. II. 273.
3) Bodin u. Lenormand, Ann. Past. XV. 279 (1901).
4) Die Litteratur bei Flügge, Mikroorganismen. 1896. S. 207.
5) Hankin u. Wesbroek, Ann. Past. VI. 633 (1892).
6) Bitter, Arch. f. Hygiene. V. 245 (1886).
7) Macfadyen, Journ. of anat. and physiol. 26. 409 (1892).
8) Hüfner, Journ. pr. Ch. N. F. V. 872 (1872).
9) Brunton und Macfadyen, Proc. Roy. Soc. 46. 542 (1890).
10) Wood, Laborat. reports Roy. Coll. Phys. Edinburgh. II, cit. n. Green, l. c.
11) Liborius, Zeitschr. f. Hyg. I. 115.
12) Fermi, Arch. f. Hyg. XIV. 1 u. Fermi und Pampersi, Maly's Jb. 1897. 827.

Die Enzyme sind meist in ihrer Wirkung beständiger gegen Gifte; eine Ausnahme macht nach Wood (l. c.) der Choleravibrio, dessen Enzym durch Carbolsäure schneller vernichtet wird, als der Vibrio selbst.

Emmerling und Reiser[1]) fanden in dem Bacillus fluorescens liquefaciens ein eiweissspaltendes papayotinähnliches Ferment. Als Producte der Gelatinespaltung durch den lebenden Pilz fanden sie sehr reichlich Ammoniak, ferner Methylamin, Trimethylamin, Cholin, Betain neben Peptonen. Aus Fibrin bildet er Peptone, Tyrosin, Leucin und Arginin, sowie Asparaginsäure.

Die Endotryptase der Hefe[2]).

Sind die eben beschriebenen Pflanzenfermente Secretionsproducte der Zellen und ohne tiefgreifende Einwirkungen aus ihnen zu gewinnen, so giebt es auch proteolytische Fermente der niederen Pflanzen, die analog der Buchner'schen Zymase (s. d.) im Allgemeinen nur im Verbande der lebenden Zelle wirksam sind und nur durch dasselbe eingreifende Verfahren aus ihnen isoliert werden können.

Schon den älteren Beobachtern war bekannt, dass alternde Hefe unter gleichzeitiger Selbstvergährung, d. h. Bildung von Alkohol und Kohlendioxyd einen grossen Theil ihres Stickstoffes verliert, der in lösliche Producte übergeht (Thénard[3]), Pasteur[4]), Duclaux[5]), Béchamps und Schützenberger[6])).

Es bilden sich dabei einerseits Producte, die der tryptischen Spaltung der Eiweisskörper entsprechen, wie Leucin etc., andererseits Purinbasen, wie Xanthin etc., die nach Kossel[7]) aus den Nucleïnen der Hefe bei der Selbstverdauung entstehen. Salkowski[8]), der Hefe in Chloroformwasser sich selbst überliess, konnte diese Resultate bestätigen. Hahn[9]) konnte bei dem Buchner'schen Presssaft dieselben Abbauproducte nachweisen. Kutscher[10]) hat mit Hilfe der modernen Methoden

1) Emmerling u. Reiser, Chem. Ber. 35. 700 (1902).

2) Eine ausführliche Monographie dieses Enzymes und die gesammte ältere Literatur findet man bei Hahn und Geret in Buchner und Hahn, Die Zymasegährung. Theil II. München 1903, S. 287 ff.

3) Thénard, Ann. de chimie. 46. 294.

4) Pasteur, Ann. de chim. et phys. 58. 401.

5) Duclaux, Thèse de Paris 1865, S. 44. cit. n. Hahn u. Geret l. c.

6) Schützenberger, Die Gährungserscheinungen l. c.

7) Kossel, Z. phys. Ch. III. 284; IV. 290; V. 152. 267.

8) Salkowski, Z. phys. Ch. XIII. 506; Z. klin. Med. XVII. Suppl.

9) Hahn u. Geret. Z. f. Biol. 40. 117 (1900).

10) Kutscher, Z. phys. Ch. 33. 59 (1901).

aus toluolisirter Hefe folgende Stoffe identificirt: Guanin, Adenin. Bei langer Autolyse scheinen die Purinbasen mehr und mehr zu schwinden. Ferner fand er Ammoniak, Histidin, Arginin, Lysin, Asparaginsäure.

Normalerweise sind diese proteolytischen Fermente nur innerhalb der Zelle wirksam und treten aus der lebenden Zelle nicht aus. Doch gelingt es mit Hilfe der Buchner'schen Methode, sie wie die Zymase als frei wirkende Enzyme darzustellen.

Hahn führte den Nachweis, dass Hefepressaft, mit Chloroform versetzt, die Fähigkeit hat, Carbolgelatine zu lösen. Er hat dann in Gemeinschaft mit Geret (l. c.) diese Frage weiter studirt und gefunden, dass die Presssäfte verschiedener Hefen proteolytische Fermente enthalten. Es bilden sich dabei sehr schnell Leucin, Tyrosin und Tryptophan, sowie unter schneller Abspaltung von Phosphorsäure aus den organischen Phosphorverbindungen Nucleïnbasen, dagegen nur sehr wenig Albumosen und keine echten Peptone. Zugesetzte Albumosen werden schnell weiter zerlegt.

Das Ferment verdaute ferner Fibrin, Eieralbumin, Caseïn etc., ist also ein ganz allgemein proteolytisch wirkendes Ferment, das am besten bei schwach saurer Reaction wirkt (0,2 % H Cl). Schon blosses Neutralisiren wirkt hemmend, noch energischer alkalische Reaction. In 9—15 Tagen bei 37° erlischt seine Wirksamkeit. Das Temperaturoptimum liegt anscheinend bei 40—45°, 60° zerstört schnell. Sauerstoff wirkt nicht hemmend. Die gewöhnlichen Antiseptica, wenigstens die Eiweiss nicht fällenden, sind gleichgiltig, Formaldehyd hemmt bei 0,1 % noch nicht, wohl aber bei 0,5 %. 1 % Blausäure scheint nicht zu hemmen. Neutralsalze wirken begünstigend, Rohrzucker und Glycerin in hoher Concentration hindern, wohl durch Wasserentziehung. Alkohol hemmt von 5 % ab. Es ist nicht diffusibel.

Hahn und Geret gelang es, durch fractionirte Fällung mit Bleiacetat ein Präparat zu gewinnen, das weder Millon'sche noch Biuretreaction gab und sich als frei von Invertase erwies.

Die Endotryptase ist in jeder Hefe enthalten, wahrscheinlich in Form eines Zymogens. Intra vitam tritt es niemals aus der Zelle aus; nur wenn die Hefe in bestimmter Weise abstirbt, z. B. erstickt oder mit Chloroform getötet wird, geht das Zymogen in actives Ferment über, und dies diffundirt dann auch durch die Zellwand.

Das Ferment steht nach seinen beiden hervorstechendsten Eigenschaften, der Wirksamkeit in schwach saurer Lösung bei tieferer Aufspaltung der Eiweissstoffe, dem Pseudopepsin von Glaessner (s. b. Pepsin) nahe; andererseits hat es aber auch vielleicht noch wichtigere Beziehungen zu den autolytischen Fermenten der Gewebe (s. o.).

... von der lebenden Zelle nicht ohne ... und bei seiner Wirkung schnell tief- ... während Albumosen etc. nur sehr ... und Geret stellen es im Allgemeinen ... das Eiweissmolecül zertrümmern.

... enthalten nach Geret und Hahn[1] die ... Typhusbacillen und Sarcina ...ingen.

... Ferment erhielten Emmerich und ... die, sich selbst überlassen, all- ... auflösen. Sie nannten es Pyocyanase. ... Enzyms und löst Fibrin und Hühner-

... aus Pyocyaneus nach Buchner's Methode ... Enzym.

... den proteolytischen Fermenten.

... Plasteïnbildung.

... von Hofmeister[1]) soll der Darmkanal ... Fähigkeit besitzen, die aus dem Eiweiss ... Albumosen und Peptone wieder zu Eiweiss ... jedenfalls, dass in diesen Organen die ... verschwinden. Zwar hat Cohnheim den ... der Ursachen dieses Verschwindens der ... Spaltungsproducten ist, und das Auf- ... auch von Kutscher und Seemann ... Erepsin oder andere Fermente (s. o.) ... Andererseits sollen nach Embden und ... Erepsin) Albumosen auch unver-

... Immerhin ist dadurch noch nicht aus- ... anderer Theil der biuretgebenden ... zu Eiweiss wird.

... 235 (1898).
... Hygiene. 1899. I.
...
... Umwandl. der Albumosen durch
... 28 (1901).

Insoweit dies eine Function der lebenden Zelle ist, gehört die Besprechung dieser Frage nicht hierher. Es sind aber in neuerer Zeit Versuche gemacht, auch für diese Rückverwandlung die Wirkung von Fermenten anzunehmen.

In erster Linie hat man das Labferment dafür heranzuziehen gesucht. Schon im Jahre 1886 beobachtete Danilewsky[1]), dass Labferment in klaren Lösungen von Peptonen einen flockigen Niederschlag bildet. Okunew[1]) untersuchte diese Erscheinung genauer und hielt nicht eine Beimengung, sondern das Ferment selbst dafür verantwortlich. Lawrow[2]) beschränkte die Fähigkeit auf die Albumosen, nicht aber sollen echte Peptone coagulirt werden. Dementsprechend fand Sawjalow[3]), dass Proto- und Heteroalbumose deutlich, Deuteroalbumose schwach, Peptone gar nicht mehr reagiren. Die entstehenden wasserunlöslichen Stoffe nannte Sawjalow „Plasteïne". Sie sollen dem Kühne'schen Antialbumid nahe stehen.

Kurajeff[1]) beobachtete analoge Erscheinungen mit dem Papayotin Merck. In Wittepepton, Muskeleiweisspepton und Caseosen erhielt er Niederschläge. Aus Wittepepton erhielt er einen in sehr verdünnten Säuren leicht löslichen, in 10 % NaCl unlöslichen Stoff, der alle Eiweissreactionen gab und durch Pepsin glatt und zwar vorwiegend zu B-Albumose (Pick) verdaut wird, während er von Papayotin kaum angegriffen wird.

Primäre Albumosen geben nur bei schwach saurer Reaction einen Niederschlag in der Kälte, beim Aufkochen auch in schwach alkalischer. Secundäre Albumosen werden ebenfalls gefällt, im Gegensatz zur Labwirkung.

In einer zweiten Arbeit hat Kurajeff[4]) seine Versuche mit rein dargestellten Albumosepräparaten wiederholt.

Heteroalbumose gab mit Papayotin, nicht mit Lab einen Niederschlag, ebenso Protalbumose. Beide Fermente fällen A- und B-Albumose nach Pick. Gegen die Caseosen verhalten sich die Fermente derart, dass Lab nur die Deuterocaseose, Papayotin nur die Protocaseose fällt. Die Niederschläge scheinen keinen Schwefel zu enthalten, sie sind kohlenstoffreich, arm an N. Ihre Menge ist sehr gering. Da die durch Papayotin entstehenden Niederschläge sich von den durch Lab entstehenden Plasteïnen unterscheiden, nennt sie Kurajeff „Koagulosen".

---

1) cit. n. Kurajeff, Hofm. Beitr. I. 121 (1901).
2) Lawrow, Z. phys. Ch. 26. 513 (1898).
3) Sawjalow, Pflüger's Arch. 85. 171 (1901).
4) Kurajeff, Hofmeister's Beitr. II. 411 (1902).

Beide stehen dem Antialbumid von Kühne und Chittenden[1] nahe. Lawrow und Salaskin[2]) schliesslich kommen zu anderen Folgerungen.

Sie fanden zunächst, dass in den Filtraten der durch Magensafteinwirkung auf Witte-Peptonlösungen entstehenden Niederschläge noch alle Albumosen qualitativ nachweisbar sind. Die Niederschläge selbst sind von dem Antialbumid verschieden, durch Magen- und Darmsaft verdaulich. Sie zeigen den Charakter von Albumosen; von einer „Rückverwandlung in Eiweiss" kann man also nicht sprechen.

Die ganze Plasteïnfrage ist somit noch sehr dunkel.

1) Kühne und Chittenden, Z. f. Biol. XIX. 159 (1883).
2) Lawrow und Salaskin, Z. phys. Ch. 36. 277 (1902).

Zwölftes Capitel.

Die „cytolytischen" (plasmatolytischen) Fermente, Agglutinine und Präcipitine.

Proteolytische Fermente besonderer Art scheinen auch bei den Processen eine Rolle zu spielen, bei denen geformte Elemente zur „Auflösung" gebracht werden. Auflösung ist allerdings nicht der richtige Ausdruck, da es sich eigentlich nur um Durchlässigwerden der Zellmembran und Austritt des Inhalts handelt. Diese Vorgänge betreffen besonders Blutkörperchen und Bacterien, aber auch andere Körperzellen, und zwar handelt es sich entweder um eine einfache Lysis oder um einen complicirten Vorgang, bei dem noch specifische Immunkörper eine Rolle spielen (s. u.).

Einfachere blutlösende Agentien werden z. B. von vielen Bacterien abgesondert, besonders vom Staphylococcus[1]) und Tetanusbacillus[2]). Ausserdem besitzen thierische und pflanzliche Toxine hämolytische Eigenschaften (Schlangengift[3])[4]), Krötengift[5]), Spinnengift[6])[7]), Ricin[8])[9]), Abrin[10]) etc.).

Alle diese Gifte sind Toxine, die ausserdem wahrscheinlich als Function einer zweiten ergophoren Gruppe Blutkörperchen „auflösen", d. h. so verändern, dass nach vorheriger Agglutination der Blutfarbstoff austritt.

1) **Neisser** u. **Wechsberg**, Z. f. Hyg. 36. 299 (1901). S.-A.
2) **Madsen**, Z. f. Hyg. 32. 214 (1899). S.-A.
3) **Calmette**, Ann. Pasteur IX. 225 (1895).
4) **Kyes**, Berl. klin. Woch. 1902. Nr. 38/39. S.-A.; Kyes und Sachs, ibid. 1903, Nr. 2—4. S.-A.
5) **Pröscher**, Hofm. Beitr. I. 575 (1901). S.-A.
6) **Kobert**, Giftspinnen. Stuttgart 1901.
7) **Sachs**, Hofm. Beitr. II. 125 (1902). S.-A.
8) **Ehrlich**, Fortschr. d. Med. 1897. 41.
9) **Jacoby**, Hofm. Beitr. I. 51 (1901). S.-A.; II. 535 (1902). S.-A.
10) **Hausmann**, Hofm. Beitr. II. 134 (1902).

Alle diese Körper sind vorwiegend toxischer Natur; ihre hämolytische Wirkung ist nur ein Nebenbefund und bedingt etwa nicht ihre Toxicität. Ich kann deshalb an dieser Stelle diese Stoffe nicht mit derselben Ausführlichkeit behandeln wie die anderen Fermente. Dies bleibt einer anderen Arbeit vorbehalten[1]). Hier kann nur ihre hämolytische Wirkung kurz gestreift werden.

Zunächst ist ihre Fermentnatur angezweifelt worden, nicht minder die der Hämolysine der Sera. Besonders der Umstand, dass keine Spaltungsproducte auffindbar sind, spricht dagegen, dass es typische proteolytische Enzyme sind. Von einer regelrechten Verdauung der Erythrocyten, geschweige denn des Hämoglobins kann gar keine Rede sein; es kann sich nur um Spaltungsvorgänge in der Substanz der Membran handeln, die den Farbstoff dann diffundiren lässt.

Indessen ist speciell für das Staphylolysin ganz neuerdings von Schur[2]) behauptet worden, dass es in seiner Wirkungsweise im quantitativen Verlauf sich so eng an die proteolytischen Fermente anlehnt, dass er nicht ansteht, es für ein echtes Ferment zu erklären, das die nach seinen Befunden auch normalerweise (natürlich im isotonischen Serum) auftretende Hämolyse katalytisch beschleunigt. Besonders der Grenzwerth, oberhalb dessen der absolute Wirkungswerth mit der Substanzmenge sich verringert, ist hier ebenso ausgesprochen, wie bei den echten Fermenten. Wenn sich eine Bestätigung dieser Angaben ergeben würde, so hätten wir wieder einen Pfeiler der Brücke geschaffen, die von den echten Fermenten zu den Toxinen hinüberführt; denn alle diese Lysine bilden echte Antikörper; wenn sie also auch echte Fermentwirkung zeigen, so schwinden die Unterschiede mehr und mehr.

Viel complicirter sind die Vorgänge, bei denen Auflösung von Zellen in der Blutflüssigkeit auftritt.

Schon seit längerer Zeit war man besonders durch die Arbeiten von Hans Buchner und seinen Schülern auf die Fähigkeit des Blutserums aufmerksam geworden, eingedrungene Bacterien zu vernichten. Man nahm zur Erklärung dieses Phänomens die Existenz besonderer [illegible] der Alexine an, denen man eine grosse Wichtigkeit bei [illegible] sowohl der angeborenen als der erworbenen Im-

1) [illegible] bacteriellen Lysine siehe Oppenheimer, „Die Bacterien-[illegible] Handbuch der pathogenen Mikroorganismen", herausg. [illegible] Kolle, Jena 1902/3. Die anderen Toxine werde ich mit [illegible] demnächst im Verlage von Fischer-Jena erscheinenden [illegible] schildern.

2) [illegible] III [illegible] (1902).

munität zuschrieb. Es kann hier um so weniger meine Aufgabe sein, die ganze Frage der Alexine und die gewaltige Litteratur über diese Dinge zu besprechen[1]), als Buchner[2]) selbst dem Gedanken Worte lieh, dass es sich bei diesen Vorgängen um die Wirkungen proteolytischer Fermente handelt. Wir haben also nur die Aufgabe, die eigenthümliche Art und Wirkungsweise dieser Fermente zu besprechen.

Die Fermente, die die Vernichtung eingedrungener Bacterien innerhalb der Blutbahn bewirken, sind nicht ohne Weiteres den gewöhnlichen, auf alle Eiweisssubstanzen wirkenden proteolytischen Fermenten gleichzustellen, sondern sie unterscheiden sich von ihnen scharf durch ihren streng specifischen Charakter.

Hier handelt es sich um die Thatsache, dass bei der activen Immunisirung eines Thieres, speciell gegen Cholera und Typhus, sich bacteriolytische Stoffe im Blutserum bilden, die im Stande sind, innerhalb des Körpers nur diejenigen Bacterien zu vernichten, gegen deren Wirkung das Thier immunisirt ist; so vernichtet das Choleraantiserum nur die Choleravibrionen, das des Typhus nur die Typhusbacillen.

Man könnte also annehmen, dass sich in dem Immunserum der Cholera ein Stoff befinde, der im Stande ist, als specifisch eingestelltes proteolytisches Ferment die Zellleiber der Choleravibrionen zu vernichten. Es würden hier also Fermente vorliegen, die mit einer so subtilen Differenzirung der Specifität der Fermentwirkung begabt sind, dass dagegen die anderen specifischen Fermente nur ganz grobe Unterschiede zu zeigen scheinen. Denn während es sich sonst um grosse Körperklassen handelt, die ihre specifischen Fermente besitzen, respectirt das Choleraimmunferment sogar die feinen Unterschiede des Zellprotoplasmas in der Weise, dass es Typhusbacillen nicht angreift.

Eine sehr interessante und theoretisch bedeutungsvolle Erweiterung unserer Kenntnisse brachten die denkwürdigen Versuche von Pfeiffer[3]). Das „Pfeiffer'sche Phänomen" zeigt uns Folgendes:

Wenn man das Serum eines gegen Cholera immunisirten Thieres ausserhalb des Körpers auf seine bacteriolytische Kraft prüft, so findet man, dass diese Kraft durchaus nicht grösser ist, als die geringe bacteriolytische Kraft des normalen Serums. Auch diese geringe Fähigkeit kann man übrigens dem Serum noch, z. B. durch Erwärmen auf 55°, völlig nehmen, so dass es nun den Vibrionen gegenüber machtlos ist.

1) Man findet eine erschöpfende Darstellung bei Aschoff, Ehrlich's Seitenkettentheorie. Ztschr. f. allgem. Physiologie II, sowie auch Jena 1902.

2) Buchner, Münch. med. Woch. 1899. 39. 40.

3) Pfeiffer, D. med. Woch. 1896. 7. u. 8.

Bringt man aber dieses inactive Serum in den Organismus zurück, spritzt man es z. B. zusammen mit lebenden Vibrionen in die Bauchhöhle ein, so entfaltet es sofort seine intensive Wirkung auf die Vibrionen, und nur auf diese, während z. B. Typhusbacillen unverändert bleiben. Es wird also die latente Fähigkeit des Immunserums innerhalb des Organismus durch irgend ein Agens wieder aufgefrischt. Dass es sich hierbei aber nicht etwa um vitale Fähigkeiten des Organismus handelt, zeigten die Versuche von Metschnikoff[1]) und Bordet[2]). Dasselbe Resultat kann man nämlich erzielen, wenn man unter Umgehung des lebenden Organismus zu dem inactiven Immunserum frisches normales Blutserum zuführt. Dieser Zusatz genügt, um dem vorher inactiven Serum die Fähigkeit der Bacteriolyse in vollem Maasse zu verleihen. Es liegt hier also der Fall vor, dass durch den Zusatz eines im Blutserum normalerweise enthaltenen Agens die latente proteolytische Kraft der Immunsera wieder in die Erscheinung tritt.

Bevor wir uns nun zu den Erklärungsversuchen, welche man für diese Erscheinung gemacht hat, wenden, müssen wir zunächst die sehr ähnlichen und theoretisch bedeutsamen Phänomene der Hämolyse schildern. Bordet fand zuerst, dass durch Injection von Kaninchenblut in die Blutbahn eines Meerschweinchens das Serum dieses Thieres die Fähigkeit erlangt, die rothen Blutkörperchen des Kaninchens in vitro aufzulösen. Diese Fähigkeit kann man durch Erwärmen auf 55° vernichten, indessen durch Zusatz von normalem Serum wieder herstellen. Der Fall liegt also ganz ähnlich wie bei den Bacteriolysinen. Ehrlich und Morgenroth[3]) haben diese Versuche wiederholt und erweitert. Sie injicirten einer Ziege Hammelblut; dadurch erlangte das Ziegenserum die Fähigkeit, die Erythrocyten des Hammels aufzulösen. Diese Kraft geht beim Erwärmen verloren, wird aber durch normales Serum wieder hergestellt; doch muss dieses Serum frisch sein, da es sonst die Fähigkeit der Activirung verliert, selbst wenn man es im Dunkeln und auf Eis aufbewahrt. Ehrlich schliesst aus diesen Versuchen folgendes:

Sowohl bei der Bacteriolyse wie bei der Hämolyse handelt es sich um eine Immunisirung gegen einen eingedrungenen protoplasmatischen Schädling, sei dieser nun ein Bacterium oder ein Erythrocyt. Der Träger dieser immunisirenden Wirkung ist ein Immunkörper. Dieser Immunkörper ist ganz analog den Antitoxinen, und seine Ent-

1) Metschnikoff, Ann. Inst. Pasteur. IX (1895). 433.
2) Bordet, Ann. Inst. Pasteur. IX—XV.
3) Ehrlich und Morgenroth, Berl. klin. Woch. 1899. 1900.

stehung wird wie die der Antikörper aus der Seitenkettentheorie von Ehrlich erklärt. Diese besagt bekanntlich, dass sich die in den Organismus eindringenden Schädlinge, mögen dieselben nun Toxine oder Zellgebilde sein, mit Hilfe ihrer „haptophoren" Gruppen an die Seitenketten der angegriffenen Zellen binden, und dass die im Uebermaass producirten Seitenketten, die dann in der Blutbahn kreisen, die specifischen Immunkörper bilden. Diese sind zum Theil antitoxischer Natur, d. h. im Stande, die eingedrungenen, resp. von den Bacterien abgesonderten Gifte zu paralysiren. Solche antitoxischen Eigenschaften haben nun die Immunsera, die bacteriolytische Fähigkeiten besitzen, nicht. Pfeiffer (l. c.) hat nachgewiesen, dass sie gegen die Giftwirkung, z. B. der Choleravibrionen, machtlos sind. Injicirt man dem Versuchsthier virulente Choleraculturen und einige Stunden nachher Immunserum, so geht das Thier in Folge der Giftwirkung zu Grunde, obwohl die Erscheinungen der Bacteriolyse in vollem Maasse vorhanden sind.

Im gewöhnlichen Zustande, besonders aber nach dem Erwärmen auf 55°, zeigt aber auch das den Immunkörper enthaltende Serum keine bacteriolytischen Eigenschaften. Dieselben treten vielmehr erst dann hervor, wenn dem an sich inactiven Immunkörper in dem frischen Serum ein Etwas zugefügt wird, dem Ehrlich den Namen „Complement" gegeben hat. Dieses Complement müssen wir nun als ein proteolytisches Enzym auffassen.

Im Sinne seiner Seitenkettentheorie denkt sich Ehrlich[1]) den Vorgang folgendermassen.

An den protoplasmatischen Schädling bindet sich zunächst durch die haptophoren Gruppen der Immunkörper. Dieser ist ein „Amboceptor", d. h. er hat zwei haptophore Gruppen, deren eine sich an die entsprechende haptophore Gruppe der Zelle bindet, während die andere das Complement verankert. Dadurch concentrirt er dessen wirksame „zymophore" Gruppe auf den Zellleib, während der Immunkörper an sich ohne Wirkung auf die Zelle ist. Darin also, dass er das im Blute vorhandene, aber sehr verdünnte Enzym auf den Eindringling concentrirt, dem er specifisch angepasst ist, beruht die specifische Function des Immunkörpers, das proteolytische Ferment braucht also nicht specifisch zu sein. Zur Unterstützung dieser Auffassung konnte Ehrlich nachweisen, dass sich der complement-

1) Wegen der Seitenkettentheorie muss ich auf die Arbeiten von Ehrlich verweisen, bes. im Klin. Jahrb. VI und „Schlussbetrachtungen", Nothnagel's Handbuch. Wien 1901; ferner Aschoff, l. c.

Bringt man ... Erwärmen auf 55° quantitativ an
spritzt man ... bindet, während diese aus
höhle ein. ... desselben aufnehmen.
Vibrionen, ... Lösung, die Immunkörper
bleiben. Es ... letzteren ebenfalls ge-
halb des Or... Blutkörperchen bindet.
Dass es sich ... des Immunkörpers
nismus han...
Bordet[2]. ... auf seine Wirksamkeit
unter Umge... zu sein, es ist aber spe-
serum fris... Amboceptor; da die Com-
um dem ... so wählen verschiedene
vollem Maas...
den Zusatz ...
latente ... Bacteriolyse und Hämolyse
nung tritt. ... nicht specifisches pro-
Bevor ... specifischen Zwischen-
diese Ersch... Zellleib so concentrirt
sehr ähnlich ... Wirkung entfalten
schildern. ... Ansicht von Ehrlich auch die-
blut in die ... normale Sera veranlasst
die Fähigkeit ... Ehrlich nicht ein einziges
vitro aufzu... aus Amboceptor und Com-
55° vernicht... Fall kommt es darauf
herstellen. ... auf unspecifische Fermente
lysinen. E...
holt und er... Streit dreht sich um
erlangte das
aufzulösen. ... leugnet überhaupt das Vor-
durch norma... sondern führt den Zerfall auf
frisch sein, ... der Ernährungsbedingungen
wenn man ... seiner letzten Arbeit[3]) die
aus diesen ... Complements zu, nimmt aber an,
Sowohl ... gelöste Auflösungsvorgang
um eine ... ist.
tischen Se...
Der Träger ...
Dieser Imm...

1) Met... hinausgehen, diese Fragen hier ge-
2) Bord... erschöpfend behandelt mit genauer
3) Ehrl... theorie. Braunschweig 1902.
... kurze Uebersicht giebt
... und Praecipitine. Volkmann's klin.
... Woch. 1902. 927.

Von einem anderen Standpunkt aus bekämpfte Buchner[1]) und mit ihm die französische Schule (Metchnikoff, Bordet) die Ehrlich-schen Schlussfolgerungen.

Sie treten für eine völlige Trennung des Immunkörpers von dem proteolytischen Ferment, dem Alexin, ein. Indem Buchner die Befunde Ehrlich's vollinhaltlich bestätigte, zog er daraus andere Schlussfolgerungen. Der gegen Erwärmen auf 55° beständige Immunkörper (Fixateur, Substance sensibilisatrice) ist specifisch, bindet sich also an das Substrat; das durch Hitze zerstörbare Ferment, das Alexin = dem Complement Ehrlich's ist nicht specifisch, bindet sich also auch nicht an das Substrat. Er hat für die Nichtspecifität des Ferments, die ja auch Ehrlich annimmt, noch den schönen Beweis geliefert, dass auch das Serum einer dritten, fremden Thiergattung als proteolytisches Ferment fungiren kann, und dass auch das eigene Serum der anzugreifenden Erythrocyten diese Function erfüllen kann. Alles dies stimmt mit Ehrlich's Ansichten durchaus überein: auch Ehrlich vindicirt die Specifität ausschliesslich dem Immunkörper; der Unterschied liegt darin, dass Ehrlich einerseits dem Immunkörper als solchem gar keine schädlichen Wirkungen auf den Eindringling zuschreibt, und dass er die Wirkung des Fermentes nur durch Vermittelung des Antikörpers herbeigeführt sehen will, während Buchner und Metchnikoff zwar die beiden Processe der Bindung durch den specifischen Immunkörper und der Auflösung durch das Alexin völlig von einander scheiden wollen, aber dafür dem Immunkörper als solchem schon einen Einfluss auf das Protoplasma und zwar einen für die Alexinwirkung disponirenden zuschreiben. Erst durch die Einwirkung des Antikörpers wird der Bacillus resp. der Erythrocyt so beeinflusst, dass er dem Alexin zur Beute fällt.[2]) Nun wäre dies eigentlich nur ein Streit um Worte, wobei Ehrlich das „disponirende Moment“ genauer dahin präcisirt, dass das Ferment durch den Immunkörper in ganz bestimmter Weise auf den Zellleib hin gerichtet wird. Indessen liegt der Unterschied doch tiefer. Zunächst sieht die Buchner'sche Schule das Alexin für jede Species als einheitlich an, während Ehrlich eine grosse Anzahl von Complementen annimmt[3]). Damit hängt zusammen die Fähigkeit der Complemente, sich specifisch an den Amboceptor zu binden, während Buchner seinen Alexinen jede Specificität, nicht blos die der Wirkung, absprach. Buchner sieht ferner einen thatsächlichen directen schädigenden Einfluss

1) Buchner. Münch. med. Woch. 1900. 277.
2) s. d. Trumpp, Z. f. Hyg. 33. S. 70.
3) Ehrlich u. Sachs, Berl. klin. Woch. 1902. 14 15. S.-A.

des Immunkörpers an sich auf den Zellleib in dem Phänomen der Agglutination. In der That zeigen die vom Complement befreiten Sera noch die Eigenschaft, die Blutkörperchen zu verkleben (Bordet l. c.), und ebenso verhalten sich die Immunsera gegen Bacterien. In dieser Alteration der obersten Schichten des Zellprotoplasmas sieht Buchner den Ausdruck einer schädigenden Kraft des reinen Immunkörpers. Erst die so geschädigte Zelle soll dann für die Alexine angreifbar sein, während sie die nicht so vorbereitete Zelle nicht angreifen können. Dagegen wendet Ehrlich ein, dass es nicht angängig sei, die Agglutinine ohne Weiteres mit den specifischen Antikörpern zu identificiren, da die beiden Vorgänge: Bacteriolyse und Agglutination durchaus nicht stets mit einander verbunden sind.

Dagegen scheint es heute ziemlich sicher, dass die Agglutinine sehr viel näher den Präcipitinen stehen, worauf wir unten zurückkommen werden.

Andererseits spricht gegen die Annahme Buchner's, dass die Alexinwirkung eine zwar durch die vorhergehende Immunkörperwirkung bedingte, aber von ihr unabhängige Erscheinung sei, die von Ehrlich constatirte Thatsache der indirecten Bindung des Fermentes an das Substrat, eben durch Vermittlung des Immunkörpers.

Wenn man also die Ehrlich'sche Theorie in dieser Beleuchtung mit den Buchner'schen Ansichten vergleicht, so sieht man, dass eigentlich ein tieferer Widerspruch thatsächlich nicht existirt; wenn man die bisher unentschiedene Frage nach der Selbständigkeit der Agglutinine ausschaltet, so finden wir bei beiden specifische Antikörper und in ihrer Wirkung unspecifische proteolytische Enzyme. Nur durch die gemeinsame Wirkung beider Agentien kommt die Plasmatolyse[1]) zu Stande. Die einzigen Unterschiede von Bedeutung bleiben dann die, dass Buchner nur eine gewisse Schwächung der Zellstructur, die zur Einwirkung des Fermentes disponirt, annimmt, während Ehrlich auf dem Boden seiner Seitenkettentheorie, die Buchner in ihren letzten Consequenzen nicht anerkennt, eine, allerdings rein hypothetische, bildliche Vorstellung von dem gegenseitigen Verhältniss von Immunkörper und Ferment entwickelt, und dass Ehrlich kein einheitliches Alexin annimmt.

1) Es dürfte sich wohl empfehlen, für die so ähnlichen Phänomene der Bacteriolyse und Hämolyse und noch einige verwandte einen gemeinsamen Namen zu schaffen. „Plasmolyse" und „Cytolyse" sind leider von den Botanikern für andere Dinge verbraucht; vielleicht lässt sich das Wort „Plasmatolyse" verwenden. Häufig werden diese Fermente als „Cytasen" bezeichnet. Dieser Name ist schon für das Celluloseferment beansprucht, doch kann man dieses besser als Cellulase bezeichnen.

In einem Punkte hat Buchner allerdings völlig Recht: wenn er nämlich energisch den Ausdruck „Reactivirung des Immunkörpers“ ausrotten will. Die specifische bacteriolytische, resp. hämolytische Function ist, wie die Auseinandersetzungen ergeben haben, nicht das Product einer einheitlichen specifisch plasmatolytischen Substanz. Die Wirkung wird jedenfalls zu Stande gebracht durch die combinirte Wirkung eines weder inactivirbaren, noch „reactivirbaren“ Immunkörpers, der specifisch ist, und eines ebenfalls nicht „reactivirbaren“, aber leicht zerstörbaren und neu zuzusetzenden, nicht specifischen proteolytischen Fermentes.

Aber eine solche „Re“activirung nimmt ja auch Ehrlich nicht an, sondern nur eine Activirung durch ein von dem Immunkörper gebundenes, nicht specifisches proteolytisches Ferment des Serums.

Eine tiefgreifende Differenz zwischen den Ansichten Ehrlich's und Buchner's scheint mir also in diesem Punkte nicht vorzuliegen.

Das proteolytische Ferment, das Alexin Buchner's, das Complement Ehrlich's findet sich also in jedem frischen Serum. Ueber seine Natur vermögen wir nichts weiter auszususagen, als dass es sowohl gegen Wärme als auch gegen Luft und Licht, auch wohl gegen die Alkalescenz des Blutes weitaus empfindlicher ist, als alle anderen bekannten proteolytischen Fermente. Versuche zu seiner Isolirung sind noch nicht gemacht.

Die Complemente sowohl der normalen als der Immunsera sind Haptine. Sie haben eine haptophore Gruppe, mit der sie den entsprechenden Amboceptor binden, und eine zymophore Gruppe, mit der sie das Protoplasma der zu vernichtenden Zelle zum Zerfall bringen. Dass sie specifisch bindende Gruppen enthalten, zeigen die gelungenen Versuche, Anticomplemente durch Injection der complementhaltigen Sera zu erhalten, die specifisch hemmend auf die entsprechenden Complemente wirken. Solche Versuche sind mit verschiedenen Complementen von Ehrlich und Morgenroth[1]), Bordet, Wassermann u. A. angestellt worden. Durch die verschiedene Wirkung dieser Anticomplemente auf die Sera konnte die Vielheit der Complemente sicher festgestellt werden[2]).

Die Complemente stehen also in ihrer Constitution den Toxinen nahe. Wie diese haben sie die Fähigkeit, sich mit der haptophoren Gruppe streng specifisch an Amboceptoren zu binden, während die zymophore Gruppe wirksam bleibt.

---

1) Ehrlich u. Morgenroth, Berl. klin. Woch. 1900. Nr. 31. S.-A.

2) Marshall u. Morgenroth, C. f. Bact. 31. Nr. 12. (1902). S.-A.

Sie zeigen aber eine noch überraschendere Aehnlichkeit mit den Toxinen dadurch, dass sie ganz wie jene Modificationen bilden, bei denen die ergophore Gruppe unwirksam geworden, während die haptophore erhalten geblieben ist. Bei den Toxinen nennt man solche unwirksamen, aber noch specifisch bindenden Stoffe Toxoide[1]) oder allgemein Haptoide. Bei den Complementen nennt man sie dementsprechend Complementoïde. Sie entstehen durch schwache Einwirkungen auf complementhaltiges Serum.

Die Complementoïde binden sich an den Amboceptor, ohne dass eine Plasmatolyse eintritt; im Gegentheil bleibt jetzt zugesetztes frisches Complement unwirksam, da es nicht mehr freie haptophore Gruppen an den Amboceptoren vorfindet, an die es sich binden kann; genau wie die Diphtherietoxoide einen Theil des Antitoxins für sich in Anspruch nehmen, so dass es nicht auf das Toxin einwirken kann.

Die Complemente zeigen aber andererseits in ihrer Wirkung grosse Aehnlichkeit mit den gewöhnlichen Fermenten.

So helfen sie uns die früher so grosse Kluft zwischen den Fermenten und Toxinen weiter zu verschmälern. Zwischen den einfachen Enzymen und den echten Toxinen liegen Uebergangsformen, und dazu gehören auch die Complemente als fermentähnlich wirkende Haptine.

Woher die Complemente des Organismus stammen, ist noch nicht mit Sicherheit entschieden. Als die ursprüngliche Phagocytenlehre Metchnikoff's, dass die weissen Blutkörperchen alle eindringenden Schädlinge auffressen, nicht mehr zu halten war, hielt man vielfach wenigstens daran fest, das die Leukocyten die Schutzstoffe erzeugen sollten. Doch auch dies blieb nicht ohne Widerspruch.

Pfeiffer[2]) konnte nachweisen, dass die bacteriolytischen Vorgänge in sehr leukocytenreichen Flüssigkeiten nicht intensiver verlaufen, als in gewöhnlichem Serum, und Moxter[3]), der die Auflösung direct unter dem Mikroskop beobachtete, konnte dies bestätigen. Andererseits hat es namentlich Buchner[4]) sehr wahrscheinlich gemacht, dass die zur Bacteriolyse nöthigen Fermente (Alexine) jedenfalls zum grössten Theile den Leukocyten entstammen, wie ja auch Eiter und andere leukocytenreiche Medien kräftige proteolytische Wirkung entfalten (Leber[5]). Für die Auffassung, dass die Complemente den zerfallenden

1) Ueber Toxine und Toxoide s. Oppenheimer, Die Bakteriengifte. i. d. Wassermann's Handbuch der pathog. Mikroorganismen. Bd. I. Jena 1902.
2) Pfeiffer, Dtsch. med. Woch. 1896. No. 7 u. 8.
3) Moxter, Dtsch. med. Woch. 1899. No. 42 (Litteratur).
4) Buchner, Münch. med. Woch. 1900. S. 277.
5) Leber, Entstehung der Entzündg. Leipzig 1891. cit. n. Buchner, l. c.

Leukocyten entstammen, hat auch Metchnikoff[1]) viele gute Gründe beigetragen; doch wird diese Auffassung wieder von Morgenroth[2]) und Ascher[3]) entschieden bekämpft. Trotzdem scheint eine Beziehung der Leukocyten zu dem Complement wahrscheinlich, während sie mit den Amboceptoren bisher in keiner erkennbaren Beziehung stehen, was auch Metchnikoff zugiebt. Vielleicht darf man sich die Sache so zurechtlegen, dass zwar die leukocytenreichen Flüssigkeiten mehr Alexine enthalten, dass aber eine gegebene Menge Immunkörper auch im Serum reichlich genug Ferment vorfindet, um eine maximale Bacteriolyse zu bewirken, und dass ein Ueberschuss von Ferment den Process nicht weiter intensivirt.

Nicht zu verwechseln mit diesen specifischen Fermenten sind die auch den Leukocyten entstammenden einfach bactericiden Stoffe von denen namentlich die Nucleïnsäure von A. und H. Kossel[4]) in ihrer Bedeutung klargestellt worden ist.

Agglutinine und Präcipitine. Nicht so sicher entschieden ist die Frage, ob andere Stoffe, die sich bei immunisatorischen Vorgängen bilden, fermentartiger Natur sind.

Die Agglutinine[5]) entstehen parallel mit den eigentlichen Immunkörpern bei der Einführung lebender oder toter Zellen in den Organismus und finden sich im Serum und anderen Körpersäften vor. Sie bewirken eine eigenartige Verklumpung der Zellen, auf die sie eingestellt sind.

Häufig hat man sie mit den Immunkörpern identificirt (s. o.). Doch spricht vieles dagegen, besonders der Umstand, dass sie sich nicht immer parallel mit diesen bilden. Baumgarten (l. c.) möchte sie sogar mit dem ganzen Lysincomplex identificiren, und bringt dafür manchen Grund. Die Frage ist noch nicht sicher zu entscheiden.

Viel eher kann man jedoch annehmen, dass die Agglutinine sehr nahe stehen den specifischen Antikörpern, die man nach Injection von gelösten Eiweisssubstanzen, sei es der Bacterien oder höherer Organismen erhält, und die man als Präcipitine bezeichnet. Sie sind zuerst für Bacterien von Kraus, für Serum von Tschistovitch, Bordet, Wassermann erhalten worden[6]).

---

1) Metchnikoff, L'immunité. Paris 1901, deutsch von Meyer, Jena 1902 (dort die ganze Litteratur); s. ferner Wilde, Arch. f. Hyg. 44. 1 (1902).

2) Morgenroth u. Korschun, Berl. klin. Woch. 1902. Nr. 37. S.-A.

3) Ascher, C. f. Bact. 32. Nr. 6 (1902).

4) A. und H. Kossel, Z. f. Hyg. 27 (Litteratur).

5) Näheres s. bei Aschoff l. c.

6) Näheres über Präcipitine s. Michaelis und Oppenheimer, Engelmann's Arch. f. Physiol. 1902. Suppl. Heft. 2.

Sie finden sich im Serum der Thiere, die mit einem Eiweissstoffe vorbehandelt sind (unter Vermeidung des Darmkanals), und geben mit den entsprechenden Eiweisskörpern Niederschläge.

Diese Reaction ist innerhalb bestimmter Grenzen specifisch, besonders für die Thierart, von der das Eiweiss herstammt, weniger für die chemische Abart des Eiweisses.

Durch ähnliche Niederschläge innerhalb der Zelle soll nun die Agglutination hervorgerufen werden; eine Ansicht, die besonders von Myers[1]) ausgesprochen wurde. Danach hätte man Agglutinine und Präcipitine im wesentlichen zu identificiren.

Ihre Natur ist noch nicht klar. Ehrlich schreibt den Agglutininen ebenfalls wie den Complementen die Structur eines Haptins erster Ordnung zu: eine haptophore und eine ergophore Gruppe. Für die Agglutinine ist die Existenz eines specifischen Amboceptors noch nicht nachgewiesen; für die Präcipitine geben eigenartige Resultate von L. Michaelis[2]) und Gengou[3]) Hinweise darauf, dass vielleicht auch die Präcipitine complexe Haptine zweiter Ordnung sein mögen, wie die Lysine.

Antiagglutinine und Agglutinoide sind beschrieben worden; für die Präcipitine sind Antikörper noch nicht bekannt, Praecipitoide verschiedentlich angeblich gefunden worden.

Eigentliche Fermente scheinen weder die Agglutinine noch die Präcipitine zu sein, da sie sich an ihre specifischen Stoffe nach einfachen Gesetzen quantitativ binden und verbraucht werden, wie die Toxine. Ob die Art ihrer Wirkung auf einer fermentativen Spaltung beruht, ist ebenfalls noch völlig unbekannt. Es sind Haptine, die auf der Stufenleiter zwischen echten Fermenten und echten Toxinen den letzteren näher zu stehen scheinen, und deshalb hier nur mit wenigen Worten zu erwähnen.

1) Myers, Proceed. pathol. Soc. 1900 und C. f. Bact. 28. 337 (1900).
2) L. Michaelis, C. f. Bact. 32. Nr. 6 (1902).
3) Gengou, Ann. Past. XVI. Oct. 1902.

Dreizehntes Capitel.

Das Labferment (Chymosin).

Dass die Schleimhaut des vierten oder wahren Magens des Kalbes die Eigenschaft hat, Milch zur Gerinnung zu bringen, ist eine längst bekannte[1]) Thatsache, deren praktische Consequenzen für die Käsebereitung man schon im Alterthum gezogen hat. Berzelius zeigte zuerst die Unabhängigkeit dieses Vorgangs von der Milchsäurebildung, auf deren Einfluss man zuerst die Gerinnung zurückgeführt hatte. Liebig nahm an, dass die Milchsäurebildung das Alkali binde, und dass dadurch das Caseïn ausfällt; doch wurde diese Ansicht von Selmi[2]) widerlegt, der zeigte, dass Milch auch in alkalischer Lösung gerinnen kann. Die wissenschaftliche Entdeckung der Labwirkung erfolgte durch Heintz[3]), der im Gegensatz zu der älteren Anschauung, die die Labgerinnung als eine Wirkung des Pepsins oder der Magensäure auffasste oder im Zusammenhang mit der Milchsäurebildung betrachtete (Soxhlet)[4]), nachwies, dass die Magenschleimhaut sowohl in saurer als in alkalischer Lösung die Milch zum Gerinnen bringt.

Hammarsten[5]) und A. Schmidt[6]) wiesen dann nach, dass diese Gerinnung durch ein Ferment ausgelöst wird, dem man den Namen Labferment oder Chymosin (engl. rennet) gegeben hat. Hammarsten zeigte die Unterschiede zwischen dieser echten Labgerinnung und der Säuregerinnung und wies durch seine Versuche mit milchzuckerfreien Caseïnlösungen bindend nach, dass die Milchsäurebildung mit der Labgerinnung gar nichts zu thun hat. Dadurch, dass die vom Käse abgegossene Molke wiederum die Fähigkeit hat, Gerinnung auszulösen, wurde die Gerinnung als eine Fermentwirkung erkannt.

1) Eine sehr interessante historische Uebersicht von den ältesten Zeiten an giebt **Peters** in seiner Diss. über das Labferment. Rostock 1894.

2) **Selmi**, J. pharm. et chim. (3.) IX. 265 (1846).

3) **Heintz**, J. f. pr. Ch. N. F. VI. 374 (1872).

4) **Soxhlet**, J. f. pr. Ch. N. F. VI. 1.

5) **Hammarsten**, Autoreferate Maly's Jb. **1872.** 118; **1874.** 135; **1877.** 158.

6) **A. Schmidt**, Beiträge z. Kenntn. d. Milch. Dorpat 1871.

Allerdings wird besonders von russischen Forschern jetzt wieder für die Nichtselbständigkeit des **Labferments** plaidirt, besonders von Pawlow[1]). Sie fassen es nur als **eine** der **wirkenden** Gruppen des „Magenfermentes" auf, das ausserdem noch die Pepsingruppen enthält (s. b. Pepsin).

Doch spricht dagegen die Selbständigkeit des Prochymosins und andere Gründe, so dass man vorläufig noch an der Individualität des Fermentes festhalten muss[2]).

Vorkommen des Labfermentes. Der normale Bildungsort des Labfermentes ist vor Allem die Schleimhaut des Magens, die es gewöhnlich als inactives Zymogen enthält, das durch Säuren in die active Form übergeht. Als Zymogen fand es Hammarsten im Magen aller daraufhin untersuchten Thiere.

Es fehlt völlig bei neugebornen Thieren (Hammarsten, Gmelin)[3]), findet sich aber stets reichlich bei Säuglingen (Szydlawski[4])).

Lab wird im Fundus reichlicher gebildet als im Pylorus; wahrscheinlich sind die Hauptzellen und die in ihnen enthaltenen Granula der Productionsort des Labzymogens (Grützner)[5]). Im Hunger ist es wie die anderen Fermente reichlicher vorhanden. Es fehlt bei schweren Erkrankungen des Magens, z. B. Gastritis und Carcinom (Boas[6]), Johnson[7]), Johannesson)[8]), doch findet es sich auch ausserhalb des Magens, z. B. im Dünndarm (Baginski[9])); im Harn fand es u. A. Holovtschiner[10]), Andere nicht, Boas[11]) sehr unregelmässig. Edmunds[12]) fand Labferment in den verschiedensten Organen, auch im getrockneten Hoden.

Auch der Pankreassaft zeigt einen Einfluss auf die Milch und scheint Lab zu enthalten (s. b. Trypsin).

1) Pawlow und Pazaschtschuk, cit. n. Lawrow u. Salaskin, Z. phys. Ch. **36**. 290 (1902).

2) S. dazu Fuld, Ueb. Milchgerinnung durch Lab. Asher-Spiro, Ergebn. d. Physiologie (1) I. 468 (1902).

3) Gmelin, Pflüg. Arch. **90**. 591 (1902).

4) Szydlawski, Prag. medic. Woch. **1892**. 365; vgl. ind. Schumburg, Virch. Arch. **97**. 260 (1884).

5) Grützner, Pflüg. Arch. XVI. 119.

6) Boas, C. med. Wiss. 1887. 417.

7) Johnson, Z. klin. Med. XIV. 240 (1888).

8) Johannesson, Z. klin. Med. XVII. 204 (1890).

9) Baginski, Z. phys. Ch. VII. 209 (1882).

10) Holovtschiner, Virch. Arch. **104**. 42 (1886).

11) Boas, Z. klin. Med. XIV. 249 (1888).

12) Edmunds, Journal of Phys. XIX. 466 (1895).

Es ist in der Thierwelt weit verbreitet, auch bei Avertebraten. Auch höhere und niedere Pflanzen enthalten labende Fermente (s. u.). Die einzelnen Labfermente sind verschieden; Morgenroth fand das Pflanzenlab, Bang das des Schweines und Menschen vom Kälberlab verschieden, so dass er es als besonderes Enzym mit dem Namen Parachymosin belegte (s. u.).

Eine wesentliche Bedeutung für die Verdauung der Eiweissstoffe scheint es nicht zu haben. Gerade bei Neugebornen fehlt es, die viel Milch consumiren. Zuntz und Sternberg[1]) fanden sogar, dass gelabtes Milcheiweiss schlechter verdaut wird, als genuines, und führen darauf z. T. die schlechtere Verwertbarkeit der Milch bei Erwachsenen zurück, die mehr Lab produciren.

Das Labzymogen. Die erste Annahme eines Prochymosins rührt von Hammarsten[2]) her. Grützner[3]) bestätigte die Existenz dieses Zymogens.

Es ist das eigentliche Secret der Fundusdrüsen, ebenso wie das Pepsinogen, und geht erst durch die Magensäure resp. bei der künstlichen Extraction mit Säuren in das Ferment über. Dazu kann man fast alle Säuren verwenden. Am besten ist Salzsäure und Schwefelsäure, am schwächsten Essigsäure (Lörcher)[4]); im Magen kann bei Abwesenheit von Salzsäure auch Milchsäure als zymoplastisches Agens dienen (Johannesson[5])), und auch andere organische Säuren (Boas[6])) und sauere Salze, dagegen nicht Kochsalz oder Kalksalze (Fuld l. c.). Es ist sowohl gegen Alkalien wie gegen Erhitzen beständiger als das Ferment selbst, wie dies ja auch für das Pepsinogen gilt (Boas[6]). Klemperer[7])).

Die Bildung des Ferments aus dem Zymogen ist durchaus von der Production von freier Säure abhängig, so dass das freie Ferment stets bei Abwesenheit von solcher im Magensaft fehlt, während das Zymogen vorhanden ist.

Glaessner[8]) hat dann das Prochymosin gemeinschaftlich mit dem Propepsin (s. d.) einer genaueren Untersuchung gewürdigt. Er erhielt eine eiweissfreie Lösung beider Zymogene. Aus diesen konnte

---

1) Zuntz u. Sternberg, Engelmann's Arch. f. Phys. 1900. 362.
2) Hammarsten, s. Lehrb. d. phys. Ch. 1896. 154.
3) Grützner, Pflüg. Arch. XVI. 118 (1878).
4) Lörcher, Pflüg. Arch. 69. 183 (1898).
5) Johannesson, Z. klin. Med. XVII. 304 (1890).
6) Boas, Z. klin. Med. XIV. 256 (1888).
7) Klemperer, Z. klin. Med. XIV. 282 (1888).
8) Glaessner, Hofmeister's Beitr. I. 1 (1901).

er durch Fällung mit Uranylacetat und Natriumphosphat das Propepsin ausfällen.

Das Prochymosin zeigt ähnliche Eigenschaften wie das Propepsin, besonders auch gegen adsorbirende Stoffe, nur beim Lycopodium zeigte sich, dass dieses Pulver Prochymosin nicht bindet, wohl aber Propepsin. Es diffundirt auch etwas schwerer durch Porzellanfilter. Gegen Aether, Aceton, Benzaldehyd ist es empfindlicher als Propepsin.

Die Bildung des freien Fermentes aus den Zymogen folgt dem Gesetz der Reactionen erster Ordnung (Fuld). Für die Annahme einer (hydrolytischen) Spaltung liegen ausreichende Gründe nicht vor.

Darstellung des Ferments. Um das Lab aus der Magenschleimhaut zu gewinnen, behandelt man sie zunächst 24 Stunden bei Zimmertemperatur mit 0,1—0,2 proc. Salzsäure, um das Zymogen in das Enzym überzuführen. Wenn man dieses Extract filtrirt und sorgfältig neutralisirt, so kann es direct zur Labprüfung verwendet werden.

An Stelle dieser Methode kann auch ein Glycerinextract (Hammarsten) oder wässerige gesättigte Salicylsäurelösung verwendet werden (Erlenmeyer[1]), sowie Kochsalzlösung etc.

Durch Fällung dieser Extracte mit Alkohol erhält man ein unreines, aber nach Wiederlösung in Wasser wirksames Präcipitat.

Lörcher[2]) benutzt Glycerin- oder besser Säureextracte der getrockneten Schleimhaut. Die Säureextracte sind wirksamer, Glycerinextracte haltbarer. Zur Trennung vom Pepsin benutzte Hammarsten folgendes Verfahren:

Das salzsaure Infus des Magens wurde durch Schütteln mit Magnesiumcarbonat neutralisirt, dann durch wenig Bleiacetat das Pepsin ausgefällt. Das Filtrat, das auf Fibrin nicht mehr wirkte, wurde von Neuem mit Bleiacetat und Ammoniak gefällt, der das Lab enthaltende Niederschlag mit sehr verdünnter Schwefelsäure zerlegt und aus dem Filtrat mit Hilfe von Cholesterin ähnlich dem Brücke'schen Verfahren für das Pepsin das Ferment isolirt.

Ueber die Trennung der Zymogene durch Glaessner s. o.

Eigenschaften des Labferments. Es zeigt die üblichen Reactionen der Fermente.

Seine Lösung in Wasser ist eine colloidale, d. h. Scheinlösung, in Wirklichkeit also eine Suspension feinster Partikel. Es haftet deshalb auch an porösen Niederschlägen, an Thierkohle etc. Es diffundirt nicht durch thierische Membranen, schwer durch porösen Thon.

---

1) Erlenmeyer, Sitzb. Münch. Acad. 1875. 82.
2) Lörcher, Pflüg. Arch. 69. 141 (1898).

Zerstört wird es:

durch Alkohol langsam, um so schneller, je mehr Alkohol die Lösung enthält.

durch Trypsin und Fäulnissbacterien (Baginski[1])).

durch Galle und choleïnsaures Natron (Boas l. c.).

Magensaft zerstört nach Hammarsten das Kälberlab bei 24- bis 48stündigem Digeriren, dagegen bleibt nach Thunberg das im käuflichen Pepsin enthaltene Lab mehrere Tage unverändert und wirksam, wenn man es nachher mit Kalk neutralisirt, nicht aber mit Alkalien.

Ammonsulfat fällt bei 80—100 % Sättigung (Fuld und Spiro), nach Blumenthal und Lehner fällt es durch Sättigung mit NaCl auf 20 % bei Säurezusatz (cit. nach Fuld l. c.).

Ein gutes Antisepticum, das Lab wenig angreift, ist nach Fuld das Senföl.

Die Zerstörungstemperatur ist je nach Reaction und Concentration der Lösung sehr verschieden. Am niedrigsten liegt der Zerstörungspunkt in alkalischer, am höchsten in schwach saurer Lösung. Für concentrirte Lösungen liegt er bei ca. 70°. Brutschranktemperatur ist nach Fuld wenig schädlich. Anwesenheit anderer Colloide, z. B. Eiweiss, verschiebt wie üblich den Punkt nach oben.

Trockenes Erhitzen verträgt es gut, auch in Glycerin ist es beständiger (Lörcher l. c.). Andererseits bleibt es auch bei 0° ungeschädigt, besonders in milchsaurer Lösung (Camus und Gley[2])).

Gegen Alkalien und Alkalicarbonat ist es sehr empfindlich; es wird schon durch 0,025 proc. Natronlauge uud 1 proc. Sodalösung zerstört (Langley[3])). Auch Licht schädigt das Ferment (Mayer), doch ist diese Wirkung nach Fuld nicht bedeutend. Sauerstoff und H_2O_2 sind ohne Einfluss (Glaessner).

Temperaturen von —180° sind für das Labferment unschädlich (Chanoz und Doyon[4])).

Wirkung des Labferments. Die Wirkung des Labferments ist die Umwandlung des Caseïns in Paracaseïn (Hammarsten).

Die Ausfällung eines Niederschlages, des Käses, die eigentliche Gerinnung, ist nicht die Folge der Fermentwirkung, sondern ein ganz secundärer Vorgang.

---

1) Baginski, Z. phys. Ch. VII. 209 (1882).
2) Camus und Gley, C. R. 125. 256.
3) Langley, Journal of Physiol. III. 259 (1883).
4) Chanoz u. Doyon, Soc. Biol. 52. 45 (1900).

Das Caseïn der Milch ist in ihr colloidal in ziemlich groben Partikeln gelöst, die sich beim Stehen von Milch langsam zu Boden senken, mit Chloroform sogar zu Flocken zusammenballen. Dieser Process ist mit der Labwirkung in Parallele gesetzt worden, so dass die Labgerinnung eine einfache Agglutination des Caseïns wäre (Duclaux, Briot); doch wiederlegt Fuld (l. c.) diese Anschauung.

In Wirklichkeit handelt es sich zunächst um eine chemische Umwandlung des Caseïns in einen Eiweissstoff mit anderen Eigenschaften, das Paracaseïn.

Hierbei tritt nach Mayer (l. c.) eine positive Wärmetönung ein, was Fuld bestätigt, sowie eine geringe Zunahme des osmotischen Druckes.

Caseïn und Paracaseïn[1]) unterscheiden sich folgendermassen: Das Caseïn wird aus der Milch durch Kochsalz, Magnesiumsulfat etc., sowie durch schwache Säuren unverändert gefällt und ist wieder löslich. Sobald es aber mit Lab gefällt wird, verändert es seine Eigenschaften. Es wird unlöslich in Wasser, die Lösung des Paracaseïns in Kalkwasser wird durch Phosphorsäure gefällt, die des Caseïns nicht. Es ist in Ammoniumoxalat unverändert löslich (Edmunds[2])). Hammarsten reinigte das Paracaseïn durch Auflösen in sehr schwachem Ammoniak und Fällen mit Essigsäure. Seine Eigenschaften zeigen je nach der Bereitung kleine Differenzen. Vor allem aber wird diese Paracaseïnlösung durch Lab nicht wieder gefällt.

Dieser Angabe ist von Peters (l. c.) widersprochen worden, der behauptete, dass die Lösung von Paracaseïn in ganz schwach kalkhaltigem Wasser nach Belieben immer wieder mit Lab zur Gerinnung gebracht werden könne.

Hammarsten[3]) widerlegte in einer sehr sorgfältigen Arbeit diese Behauptung und führte sie darauf zurück, dass Peters mit stark salzhaltigem Labextract gearbeitet hatte, wobei das Paracaseïn durch Kochsalz gefällt, aber nicht durch Lab coagulirt wurde. Das Verhalten von Paracaseïnkalklösungen gegen Kochsalz ist also ebenfalls ein Unterscheidungsmerkmal von Caseïn, da dieses von ebenso verdünntem Kochsalz nicht gefällt wird (Ringer)[4]). Beim Erwärmen fällt häufig auch spontan etwas Paracaseïn aus, das durch Erwärmen verändert zu werden scheint.

---

1) Dies ist die Terminologie nach Hammarsten, der man wohl am besten folgt. Andere, z. B. Peters (Untersuch. üb. das Lab. Diss. Rostock 1894), bezeichnen Hammarsten's Caseïn als Caseïnogen, das Paracaseïn als Caseïn. Fuld macht den sehr zweckmässigen Vorschlag, das durch Säuren ausgefällte Caseïn als Caseïnsäure, die Metallverbindungen als caseïnsaure Salze, analog die Paracaseïnverbindungen als Paracaseïnsäure etc. zu bezeichnen.

2) Edmunds, Journ. of physiol. XIX. 466 (1895).

3) Hammarsten, Z. phys. Ch. 22. 130 (1896/97).

4) Ringer, Journ. of physiol. XI. 464.

Indessen ist es noch nicht gelungen, Caseïn und Paracaseïn chemisch exact zu identificiren, so dass die Möglichkeit besteht, dass das Paracaseïn nur eine Modification des Caseïns ist. (Genaueres s. b. Fuld l. c. S. 484.)

Der Chemismus der Labwirkung. Hammarsten nahm zuerst an, dass das Lab eine Spaltung des Caseïns in der Weise bewirke, dass es in Paracaseïn übergeht, und nebenher eine Albumose entsteht, die von Köster[1]) näher untersucht wurde.

Indessen scheint diese Spaltung thatsächlich nicht einzutreten, wie auch Hammarsten später annahm. Hillmann[2]) fand, dass sich ebensoviel Paracaseïn bildet. als Caseïn vorhanden war (innerhalb der Versuchsfehler). Fuld nimmt an, dass die auftretenden hydrolytischen Spaltungen durch Bacterien oder durch proteolytische Enzyme anderer Art bedingt sind.

Fuld fasst die Labgerinnung auf als eine Umwandlung des Caseïns in Paracaseïn. Die Ausscheidung tritt erst dann ein, wenn alles Caseïn umgewandelt ist; denn das Caseïn hemmt die Ausscheidung des Paracaseïns. Auch andere Colloide hindern, so z. B. Silbersol; auf der Anwesenheit von grossen Albuminmengen beruht auch wohl die Ungerinnbarkeit des Colostrums. Das Lab ist nicht in echter Lösung, sondern bindet sich an das ebenfalls ungelöste Caseïn in fester Lösung, ähnlich wie Pepsin an Fibrin. Das umgewandelte Caseïn giebt dann das Ferment wieder frei, so dass es ein neues Caseïntheilchen angreifen kann.

Die Milchgerinnung. Die Gerinnung der Milch, das Ausfallen des Paracaseïns ist nur eine secundäre Erscheinung.[3])

Wenn man nämlich eine Lösung von Caseïn in Kalkwasser unter Vermeidung eines Ueberschusses von Kalk darstellt (Verreiben von Caseïn in Wasser mit reinem Calciumcarbonat)[4]), so hat man eine annähernd neutrale Lösung von Caseïnkalk. Diese gerinnt mit reinem Labferment nicht. Sobald man jetzt indessen ein lösliches Kalksalz zusetzt. so tritt Gerinnung ein: das bereits gebildete, aber in Lösung befindliche Paracaseïn fällt aus. Dasselbe, jedoch nur bei grösserer Concentration der Lösung und oft erst bei Körpertemperatur und höher, erreicht man mit kalkfreiem Kochsalz (Hammarsten).

---

1) Köster, Upsala läkaref. förh. XVI. 514. Maly's Jb. XI. 14 (1881).

2) Hillmann, Milchztg. 25. 86, cit. n. Fuld l. c. Ferner Mitth. landw. Inst. Univ. Leipzig 1897, cit. n. Hammarsten, Z. phys. Ch. 28. 114 (1899).

3) s. d. Arthus und Pagès, Arch. d. phys. (5) II. 330. 540 (1890).

4) Zuerst hatte Hammarsten diese „künstliche Milch" durch Auflösen von Caseïn und Neutralisiren mit Phosphorsäure dargestellt. Diese Lösung war gerinnungsfähig, wobei H. dem Calciumphosphat eine grosse Rolle zuschrieb.

Wenn man die Kalksalze der Milch durch Oxalat entfernt und den Ueberschuss der Oxalate wegdialysirt, so tritt zwar durch Lab völlige Umwandlung des Caseïns in Paracaseïn, nicht aber Fällung auf. Diese stellt sich aber bei Zusatz von Calciumchlorid sofort ein. Aehnlich verhält sich sterilisirte Milch. Andererseits kann man nach dem Vorgang von Morgenroth das Lab an das Caseïn binden, ohne dass Gerinnung eintritt, wenn man die Mischung im Eisschrank aufbewahrt. Die Rolle der löslichen Kalksalze ist also nicht für die Bildung des Paracaseïns nöthig, sondern sie oder andere Salze nur für die Fällung des bereits entstandenen, und damit müssen sie von der wichtigen Position bei der Labgerinnung zurücktreten, die ihnen seit Söldner[1]) zugeschrieben wurde; dieser hatte die Wichtigkeit der löslichen Salze hervorgehoben, dem vom Caseïn in Lösung gehaltenen Calciumphosphat dagegen keine Bedeutung zugeschrieben, im Gegensatz zu Hammarsten's älteren Ansichten, nach denen nur das Calciumphosphat wirksam sei.

Jedoch haben daneben die Kalksalze eine beschleunigende Wirkung auf die Fermentaction selbst (Fuld).

Die Kalksalze können nach Arthus[2]) und Lundberg[3]) auch durch Baryum- oder Strontiumsalze ersetzt werden, auch Magnesium giebt einen lockeren, leichter löslichen Käse.

Eugling[4]) schreibt dem Caseïn die Structur eines Tricalciumcaseïnphosphats zu und nimmt an, dass dieses durch Lab in eine lösliche Calciumphosphatverbindung gespalten wird. Dieser Anschauung ist dann von Söldner in der oben citirten Arbeit widersprochen worden, der die Existenz einer solchen Verbindung von Caseïn mit Calciumphosphat leugnet. Auch Fuld hält das Calciumphosphat für einfach durch das Caseïn suspendirt. de Jager[5]) will den löslichen Kalksalzen die Bedeutung beilegen, dass sie andere Verbindungen des Caseïns, z. B. Caseïnnatrium in das zur Gerinnung geeignete Calciumsalz überführen. Courant[6]) nimmt an, dass nur eins der Caseïncalciumsalze, nämlich das für Phenolphthaleïn saure, für Lakmoid alkalische Dicaseïn gerinnbar sei, und dass auch neutrales Calciumtriphosphat, das sich bei Gegenwart löslicher Kalksalze und Phosphorsäure bildet, vorhanden sein muss. Die schlechtere Gerinnbarkeit der Frauenmilch führt er auf die grössere Alkalescenz zurück. Dafür sprechen auch die Beobachtungen von Raudnitz[7]) und Szydlawski[8]), dass sie nach sehr schwachem Ansäuern auch typisch gerinnt.

1) Söldner, Landw. Versuchst. 35. 351.
2) Arthus und Pagès, l. c. S. 540.
3) Lundberg, Maly's Jb. 1876. 11.
4) Eugling, Landw. Versuchst. 31. 391 (1885).
5) de Jager, Maly's Jb. 1897. 276.
6) Courant, Reaction der Kuh- und Frauenmilch. Diss. Breslau 1891.
7) Raudnitz, Prag. med. Woch. 1887. 24.
8) Szydlawski, Prag. med. Woch. 1892. 365.

Entfernt man die löslichen Kalksalze durch Oxalate, resp. Barytsalze durch Schwefelsäure (Lundberg[1]), so wird die Milch ungerinnbar.[2]) Korschun[3]) zeigte, dass dabei die Menge des Fermentes ganz gleichgiltig ist. Wenn man für eine bestimmte Menge Milch die nöthige Oxalatmenge bestimmt hat, so kann man bei gleichbleibendem Oxalatzusatz beliebig grosse Mengen Lab (Kalkfreiheit der Zusätze vorausgesetzt) zufügen, ohne dass Gerinnung eintritt. Geht man aber mit dem Oxalatzusatz herunter, so kann man proportional auch die Fermentmenge erniedrigen. Es tritt doch Gerinnung ein, da jetzt eben lösliche Kalksalze im Ueberschuss vorhanden sind.

Die Rolle der löslichen Salze, besonders der Erdalkalien, bei der Ausfällung des Paracaseïns ist noch nicht genügend geklärt. Fuld denkt an eine Löslichkeitsverminderung schwer löslicher Salze durch solche mit gleichem Ion, ohne diese Hypothese bisher genügend stützen zu können.

Bestimmung der Wirksamkeit. Meist bestimmt man die Wirksamkeit des Ferments, resp. die vorhandene wirksame Menge durch die Zeit, die eine gegebene Menge braucht, um eine gegebene Quantität Milch zur Gerinnung zu bringen, da ja beim Labferment die Zeit der Wirkung ceteris paribus genau umgekehrt proportional der Fermentmenge ist.

Morgenroth[4]) hat dafür die geringste Menge einer bestimmten Fermentlösung bestimmt, welche unter gleichen Bedingungen die gleiche Milchquantität coagulirt. Er hielt die Ferment-Milchmischung über Nacht bei 0°—8°; dabei erfolgt keine Gerinnung. Dann erwärmte er schnell auf 32°, dabei spielt sich der überwiegende Theil der Fermentwirkung in der Kälte ab, wo keine Schädigung des Enzyms eintritt. Dadurch konnte er das nöthige Minimum finden und dies als Einheit nehmen.

Diese Methode giebt indessen nach Fuld ebenfalls keine absoluten Werthe, da auch in diesem Falle die Zeit der Einwirkung eine Rolle spielt, so dass nach längerer Einwirkung in der Kälte der scheinbar „absolute" Minimalwerth noch herabgesetzt erscheint.

Wirksamkeit des Ferments. Hammarsten fand, dass Lab, das Product als reines Ferment betrachtet, die 4—800000 fache Menge Caseïn umsetzen könne.

1 Lundberg, Maly's Jb. 1876. 11.
2) Arthus und Pagès, l. c. S. 540.
3) Korschun, Z. phys. Ch. 36. 141 (1902).
4) Morgenroth, Centrbl. f. Bact. 26. 349 (1899).

Nach Fuld lässt sich die Wirksamkeit des reinen Ferments auf mindestens $1:3 \times 10^7$ schätzen.

Für die Wirksamkeit des Ferments gilt das Zeitgesetz der Labung:

Das Product aus Fermentmenge und Gerinnungszeit ist constant (Lt = C).

Dieses Gesetz ist für mittlere Labconcentrationen zuerst von Segelcke und Storch[1]) formulirt, von Hansen und Soxhlet[2]) eingehend bestätigt worden. Fuld[3]) hat seine allgemeine Giltigkeit auch für die Grenzfälle der sehr schnellen und sehr langsamen Gerinnung formulirt.

Die Umwandlung erfolgt mit gleichförmiger Geschwindigkeit. Bei gleicher Fermentmenge scheint nach Fuld die Reactionszeit dem Caseïngehalt proportional zu sein, unabhängig vom Reactionsvolumen. Dies lässt auf eine intermediäre Bindung des Enzyms an Caseïntheilchen und Wiederabspaltung denken, da jedes Caseïntheilchen seine bestimmte Umwandlungszeit besitzt. Man darf also nie gleiche Volumina, sondern muss stets gleiche Caseïnmengen vergleichen.

Dagegen steht die Ausscheidungszeit des Paracaseïnkalks in keinem ersichtlichen Verhältniss zur Fermentmenge. Sie ist bei Zufügung von Kalksalzen zu bereits gebildetem Paracaseïn unmessbar kurz (Fuld).

Am besten wirkt Lab nach Peters (l. c.) und Mayer[4]) bei Körpertemperatur. Unter 15° wirkt es sehr langsam auf das Caseïn, ohne dass Ausscheidung eintritt, doch ist das Enzym noch bei niederen Temperaturen langsam wirksam; eine untere Grenze scheint überhaupt nicht zu existiren (Fuld). Nach Boas[5]) liegt das Optimum bei 35—40°, nach Fuld bei 45°.

Von Salzen zeigte namentlich Ammonsulfat Behinderung (Peters), doch auch andere Salze. Carbonate, Sulfate, Nitrate wirken hemmend, Kochsalz bis zu 0,9 Proc. fördernd, dann hemmend (Mayer l. c.). Magnesiumsalze, sowie die des Zinks, Aluminiums, Cadmiums wirken beschleunigend (Lörcher)[6]), besonders aber Chlorcalcium (Ringer[7]), Boas l. c.[5]). Die Säurewirkung hat Pfleiderer[8]) untersucht. Er

1) Segelcke und Storch, Ugeskrift for Landmaend 1870, Nr. 15 (cit. n. Fuld l. c.).
2) Soxhlet, Milchzeitung 1877. Nr. 37/38 (do).
3) Fuld, Hofmeister's Beitr. II. 170 (1902).
4) A. Mayer, Landw. Versuchst. 27. 247 (1882).
5) Boas, Z. f. klin. Med. XIV. 249 (1888). s. a. Johnson, Z. klin. Med. XIV. 243 (1888).
6) Lörcher, Pflüg. Arch. 69. 141 (1898).
7) Ringer, J. of physiol. XI. 464.
8) Pfleiderer, Pflüg. Arch. 66. 605 (1897).

fand HCl am meisten fördernd, dann Salpetersäure, Milchsäure, Essigsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure. Borsäure ist ohne Einfluss (Mayer)[1].

Chloroform wirkt nach Benjamin[2]) schädlich, Blausäure nach Fuld und Spiro nicht.

Ebenso wirkt Zusatz von unveränderter Milch verzögernd auf die Gerinnung (Arthus und Pagès, de Jager).

Peptone verzögern seine Wirksamkeit, besonders in 8 proc. Kochsalzlösung (Gley[3]), Edmunds[4]), Locke)[5]).

Nach Fuld und Spiro (s. u.) wirkt das Pepton schon auf das Caseïn ein, so dass es beim Kochen z. Th. ausfällt.

Freudenreich[6]) untersuchte den Einfluss verschiedener Antiseptica auf Labferment. Er fand, dass seine Wirksamkeit durch Thymol und Formaldehyddampf sowie Bichromat schwer geschädigt wird; dass hingegen Chloroform und Formalin in 0,5—1 proc. Lösung wenig Einfluss haben. Alkaloïde wirken fördernd (Peters).

Rhodankalium wirkt nach Wróblewski[7]) auf das Caseïn ein, das es ungerinnbar macht.

Gekochte Milch gerinnt nicht, wohl aber nach Zusatz von Kalksalzen oder Durchleiten von Kohlensäure (Schaffer)[8]). Sterilisirte Milch ist überhaupt nicht zu verkäsen.

Antilab. Die Zufuhr von Labferment subcutan in kleinen Dosen erzeugt eine Immunität gegen das Ferment, die sich dadurch kundgiebt, dass in Serum und Milch der immunisirten Thiere ein Antilab vorhanden ist, das, der Milch zugesetzt, die Gerinnung verhindert. Morgenroth[9]), dem wir diese interessante Entdeckung verdanken, hat die hemmende Energie des Labimmunserums quantitativ untersucht und gefunden, dass der Antitoxingehalt der einzelnen Sera stark schwankt. Das stärkste Immunserum, das er bekam, hinderte noch bei einem 2 proc. Zusatz zur Milch die Gerinnung bei einem Fermentzusatz von 1:20000, während bei 1:15000 Gerinnung eintrat. Ohne Antilabzusatz trat die Gerinnung bei einem Zusatz von 1:3 Millionen ein. Es war also bei Antilabzusatz in diesem Falle die 200fache Fermentmenge nöthig,

---

1) Mayer, Enzymologie, l. c. S. 49.
2) Benjamin, Virch. Arch. 145. 30 (1896).
3) Gley, Soc. Biol. 48. 591 (1896).
4) Edmunds, Journ. of physiol. XIX. 466 (1896).
5) Locke, Journ. of exp. medic. II. 493 (1897).
6) Freudenreich, C. f. Bact. (II.) IV. 309 (1898).
7) Wróblewski, Chem. Ber. 28. 1719 (1895).
8) Schaffer, Landw. Jb. d. Schweiz 1887. cit. n. Fuld.
9) Morgenroth, C. f. Bact. 26. 349 (1899); 27. 721 (1900).

um Gerinnung zu erzeugen. Der theoretischen Bedeutung dieses Befundes sind wir im allgemeinen Theil gerecht geworden. Das Antilab ist sehr unbeständig. Auch normale Sera (z. B. Pferd) enthalten Antilab. Darauf führt Morgenroth die gerinnungshemmende Wirkung verschiedener Blutsera, speciell des Pferdeblutes zurück, die von Röden[1]) und Briot[2]) festgestellt worden ist.

Auch im Harn und der Frauenmilch scheinen Antikörper vorzukommen. Doch ist es nach Fuld nicht zulässig, das normale und das durch active Immunisirung erzeugte Lab einfach zu identificiren.

Das Antilab wirkt insofern specifisch, als durch sein Vorhandensein die Labung von Milch durch Pflanzenenzyme nicht beeinflusst wird, die ihrerseits wieder specifische Antikörper bilden (s. u.).

Fuld und Spiro[3]) haben die labhemmende Function des Blutserums genauer untersucht. Sie fanden, dass von normalem Pferdeserum stets 0,2 ccm genügten, um 0,1 ccm ihrer Lablösung zu hemmen, also eine deutliche quantitative Beziehung.

Erschwert wird die Aufklärung dieser Vorgänge sehr wesentlich dadurch, dass gleichzeitig das Plasma und auch das Serum selbst labende Wirkung ausüben. Doch lassen sich die beiden Agentien durch Ammonsulfat trennen. Das Lab findet sich in der Euglobulinfraction (28—33 %, Ammonsulfat), das Antilab in der Pseudoglobulinfraction (34—46 %).

Achard und Clerc[4]) fanden die Antilabwirkung im Serum bei schweren Krankheiten vermindert.

Der labende Körper des Blutes erwies sich als ein echtes Labferment.

Das Antilab der Pseudoglobulinfraction wird beim Aufbewahren allmählich unwirksam. Chlorcalcium hemmt seine Wirkung. Durch Chamberlandfilter passirt es und wird durch Erhitzen auf 70° zerstört.

Die ganze Antilabfrage ist dann noch einmal von Korschun[5]) ausführlich behandelt worden.

Im vollen Gegensatz zu den Erscheinungen bei der Kalkbindung durch Oxalat fand er, dass die zur Labhemmung nöthige Serummenge durchaus von der Fermentmenge abhängig ist, nicht von der Menge der Kalksalze. Die Relation Lab-Antilab folgt genau den Gesetzen der Antitoxinwirkung. Bei L_0, dem Gleichgewichtszustand, genügt eine

1) Röden, Maly's Jb. XVII. 160 (1887).
2) Briot, Études sur la présure: Thèse Paris 1900; ferner C. R. 128. 1359 (1899).
3) Fuld und Spiro, Z. phys. Ch. 31. 132 (1900).
4) Achard u. Clerc, C. R. 130. 1727.
5) Korschun, Z. phys. Ch. 36. 141 (1902).

geringe Menge Lab, um das Gemisch wirksam zu machen, L†[1]) herbeizuführen. Die Bindung Lab-Antilab vollzieht sich bei Zimmertemperatur in 15′.

Korschun gelang es ferner, Ziegen gegen das Antilab zu immunisiren und Antiantilab zu erzeugen; das Immunserum verringerte in einer Dosis von 1 ccm die Antilabwirkung auf 1/12. Dieser Antikörper wird bei 80° in 1 h zerstört.

Neben dem typischen Antilab ist aber in den Seris noch ein anderes Agens vorhanden, das sich auch in solchen Seris findet, die kein Antilab enthalten (Ziegenserum). Dieser Stoff wirkt allmählich destruirend (bei 37° schneller als bei 15°) auf das Lab ein: er ist hitzebeständig (2 h Kochen) und dialysirt, wodurch er sich völlig entfernen lässt (Pseudoantilab). Seine allmähliche Wirkung stellt ihn in Gegensatz zu der schnellen Bindung von Lab-Antilab.

Auf die Existenz von Labfermentoiden, d. h. unvollkommenen Complexen, die zwar noch das Antilab binden, aber mangels einer zymophoren Gruppe nicht mehr laben, weisen Versuche von Korschun[2]) hin. Er fand nämlich, dass bei Filtration von Labferment durch Chamberlandkerzen die Abschwächung der absoluten Wirksamkeit eine sehr viel grössere war, als die Abschwächung der bindenden Kraft. Es scheinen danach durch das Filter Stoffe leichter zu passiren, die zwar noch binden, aber nicht mehr laben, also Fermentoide nach der Ehrlich'schen Nomenclatur. Da wir die Relation zwischen Bindung und absoluter Wirkung im unveränderten Ferment nicht kennen, so entziehen sie sich in diesem der Entdeckung.

Parachymosin: Wie wir oben kurz angedeutet haben, hat es nach den Befunden von Bang[3]) den Anschein, als ob es verschiedene milchcoagulirende Fermente im Thierreich gebe. Bang fand nämlich das Labferment des Menschen und des Schweines sehr verschieden von dem anderer Thiere, speciell dem gewöhnlichen Kalbsmagenferment.

Thunberg hatte schon beiläufig gefunden, dass das im käuflichen Pepsin (aus Schweinemagen) enthaltene Labferment nach mehrtägigem Digeriren in schwach saurer Lösung Milch nicht mehr coagulirt, wenn es mit Alkali, wohl aber, wenn es mit kohlensaurem Kalk neutralisirt wird. Bang fand nun, dass Kälberlab sich gegen beide alkalisirende Mittel ganz gleichmässig verhält. Er schloss daraus, dass das

---

1) Diese Grenzwerthe sind der Antitoxinlehre entnommen; s. Ehrlich, Werthbemessung des Diphterieserums. Klin. Jb. VI, sowie die zusammenfassende Darstellung bei Oppenheimer, „Die Bacteriengifte". Kolle-Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. I. Jena 1902.

2) Korschun, Z. phys. Ch. 37. 366 (1903).

3) Bang, Pflüg. Arch. 79. 425 (1900).

Pepsinlab anders beschaffen sei, als das Kälberlab, und fand das bei näherer Untersuchung bestätigt. Zwischen dem gewöhnlichen Chymosin und dem Parachymosin existiren folgende Unterschiede:

Parachymosin folgt nicht dem für Lab geltenden Gesetz, dass die Reactionszeit umgekehrt proportional der Fermentmenge ist, sondern seine Wirksamkeit nimmt bei zunehmender Verdünnung sehr viel schneller ab und wird bei starker Verdünnung gleich Null.

Chlorcalcium wirkt auf Parachymosin viel energischer fördernd, wie auf Chymosin.

Parachymosin ist beständiger gegen Hitze, bleibt daher bei bestimmten Bedingungen noch bei 75⁰ einige Zeit wirksam.

Dagegen ist es viel empfindlicher gegen Alkalien als Chymosin.

Man kann in Fermentgemischen entweder durch Erhitzen das Chymosin, oder durch Alkali das Parachymosin zerstören; dieser Umstand besonders führt Bang zur Annahme zweier Fermente.

Okunew[1]) nimmt ebenfalls zwei verschiedene Labfermente, aber in demselben Thier an. Er fand im Pankreas von Herbivoren und vom Hunde ein vom Magenlab verschiedenes Ferment. Das Magenlab wird durch Trypsin zerstört, das andere nicht.

In welchen Beziehungen die Labwirkung zu der Plasteïnbildung aus Albumosen steht, ist zur Zeit noch nicht entschieden (vgl. S. 158).

Pflanzliches Labferment. Die Eigenschaft gewisser Pflanzensäfte, Milch zu coaguliren, ist schon im sechzehnten Jahrhundert bekannt geworden, besonders vom Galium verum, das nach Green's[2]) Angabe heute noch zur Milchgerinnung benutzt wird. Ebenso Pinguicula vulgaris, die nach Linné[3]) in Lappland, nach Pfeffer[3]) in den italienischen Alpen dazu dient, Drosera (Darwin[4])), Carica papaya (Martin[5])) etc.

Baginski[6]) fand Labferment in Artischocken, Carica papaya u. a.

Genauer untersucht hat es Lea[7]), der es aus dem Samen von Withania coagulans, einer in Afghanistan und Indien wild wachsenden Solanacee isolirte, und zwar mit Glycerin oder Kochsalzlösung. Es zeigt ähnliche Eigenschaften wie thierisches Lab. Es hat insofern praktisches Interesse, als die Hindus aus religiösen Gründen kein thierisches Lab verwenden.

1) Okunew, cit. n. Kurajeff, Hofm. Beitr. I. 123 (1901).
2) Green, Annals of botany VII. 112.
3) cit. n. Green, l. c.
4) Darwin, Insectivorous Plants. 2. Aufl. 1875. S. 114.
5) Martin, Journ. of physiol. VI. 340.
6) Baginski, Z. phys. Ch. VII. 209 (1882).
7) Lea, Proc. Roy. Soc. 36. 55 (Nov. 1883).

Green[1]) fand es unter anderem in den keimenden Samen von Ricinus communis und zwar als Zymogen, das durch verdünnte Säuren activirt wurde.

Es reagirt sowohl in saurer als in alkalischer Lösung.

Auch die Frucht der „Naras"-Pflanze (Acanthosicyos horrida) von Südafrika enthält ein Labferment, das sogar in 60 Proc. Alkohol löslich sein soll (Marloth[2])); ebenso Chittenden's Bromelin[3]).

Im Malz fand Weis[4]) ein Labferment.

Auch Peters[5] and Lab bei zahlreichen Pflanzen: Feigen, Artischocken, Labkraut, Distel, sowie im Papayasaft. Rosetti[6]) hat sich mit dem milchgerinnenden Ferment der Artischocken (Cynarase) beschäftigt, gegen das Morgenroth[7]) Thiere immunisiren konnte, so dass sie eine specifische Anticynarase erzeugten, die auf thierisches Lab nicht wirkt.

Schliesslich fand man es in Bacterienenzymen[8]), z. B. von Bacillus Amylobacter (Fitz und Hueppe[9])), Bacillus mesentericus vulgatus (Vignal[10])), Bacillus prodigiosus (erst durch halbstündiges Erhitzen auf 100° vernichtet [?]) (Gorini[11])), in Choleravibrionen (Fokker[12])). Conn[13]) hat aus verschiedenen Bacterien ein typisches Labferment isolirt, Kalischer[14]) aus Bacterien, die in der Milch vorkommen.

Loeb[15]) hat aus Staphylococcus quadrigeminus ein Labferment isolirt und genauer untersucht. Es hat von dem gewöhnlichen thierischen Lab verschiedene haptophore Gruppen.

In Hefepresssaft fand Rapp[16]) ein labähnliches Enzym.

---

1) Green, Proc. Roy. Soc. 48. 391 (1890).
2) Marloth, cit. nach dem Referat von Green, Nature. 1888. 275.
3) Chittenden, Journ. of physiol. XV. 249.
4) Weis, Z. phys. Ch. 31. 79 (1900).
5) Peters, Unter. üb. das Lab. Diss. Rostock 1894. S. 45.
6) Rosetti, Chem. Centralbl. 1899. I. 131.
7) Morgenroth, C. f. Bact. 27. 721 (1900).
8) Duclaux, C. R. 91. Hueppe, Dtsch. med. Woch. 1884. 777.
9) Fitz und Hueppe bei de Bary, Vorlesung üb. Bacter. Leipzig 1885.
10) Vignal, cit. n. Green, Ann. of bot. VII. S. 120.
11) Gorini, Hyg. Rdsch. 1893. 381.
12) Fokker, Dtsch. med. Woch. 1892. 1151.
13) Conn, C. f. Bact. XII. 223.
14) Kalischer, Arch. f. Hyg. 37. 54 (1900).
15) Loeb, Centralbl. f. Bact. 32. Heft 6 (1902).
16) Rapp, C. f. Bact. (2.) IX. 625 (1902).

Vierzehntes Capitel.

Das Fibrinferment (Thrombase).

Man neigt heute ziemlich allgemein der Ansicht zu, dass die Blutgerinnung bewirkt wird durch ein Enzym, das specifisch wirkt. Fuld hat die Wirkung mit Sicherheit als eine enzymatische erkannt[1]).

Nun ist die Blutgerinnung ein ausserordentlich complicirter Vorgang, der noch durchaus nicht in allen Einzelheiten aufgeklärt ist. So ist denn auch der Antheil, den das Fibrinferment an diesem Vorgange hat, noch nicht sichergestellt.

Es kann also hier deshalb nicht meine Aufgabe sein, diesen ungemein schwierigen Complex von Fragen zu entwirren, da ein grosser Theil der die Blutgerinnung fördernden und hemmenden Einflüsse wahrscheinlich mit dem fermentativen Vorgang gar nichts zu thun hat.

Ich möchte mich aus diesen Gründen auf denjenigen Antheil der Blutgerinnung beschränken, der als wirklich fermentativer Proces betrachtet werden kann.

Dies ist die Umwandlung des Fibrinoglobulins (Fibrinogens) in Fibrin unter dem Einfluss des Fibrinferments.

Das Fibrinferment, das in seiner Wirkung auf Fibrinogen zuerst von Buchanan[2]) beobachtet wurde, erhielt seinen Namen von A. Schmidt[3]).

A. Schmidt fasste die Blutgerinnung auf als einen Vorgang, bei dem unter dem Einfluss des Fibrinferments aus der fibrinogenen und der fibrinoplastischen Substanz des Blutes sich der Faserstoff Fibrin bildet.

Als fibrinoplastische Substanz bezeichnete er das „Paraglobulin“. Als dann Arthus[4]) die Behauptung aufstellte, dass die löslichen, durch

1) Fuld, Hofmeister's Beitr. II. 514 (1902).

2) Buchanan, cit. nach Hammarsten, Phys. Chemie.

3) A. Schmidt, Pflüg. Arch. VI. 413 (1872); XI. 291. 515 (1875); XIII. 93 (1876).

4) Arthus, Rech. sur la coagul. du sang; Thèse de Paris 1890.

Oxalsäure fällbaren Kalksalze eine fundamentale Bedeutung für das Zustandekommen der Fibrinbildung besitzen, leugnete A. Schmidt[1]) diesen Zusammenhang völlig; er schrieb den Kalksalzen nur eine zwar intensivere, aber doch principiell gleiche Bedeutung wie allen anderen löslichen Neutralsalzen zu. Die Thatsache, dass Oxalatplasma nicht gerinnt (Arthus und Pagès)[2]), konnte er natürlich nicht leugnen, fasst sie aber dahin auf, dass die Oxalate die Entstehung des Fermentes hindern.

Eine Theorie von Lilienfeld[3]) ist von Hammarsten[4]) in seiner grundlegenden Arbeit so entschieden widerlegt worden, dass wir sie nur aus historischem Interesse erwähnen wollen. Nach dieser Anschauung spaltet sich das Fibrinogen in Thrombosin und eine Albumose; die Verbindung von Thrombosin mit Kalk ist das Fibrin. Hammarsten konnte unter anderem zeigen, dass das „Thrombosin“ nichts anderes ist, als durch Wasser etwas denaturirtes Fibrinogen.

Die Kalksalze sind zu der Umsetzung von Fibrinogen in Fibrin, sowie zur Ausfällung des Fibrins gleichgiltig. Auf ihre Bedeutung werden wir unten zurückkommen. Die Existenz einer fibrinoplastischen Substanz ist zum mindesten sehr zweifelhaft.

Nachweis des Ferments.

Der principiell beste Nachweis des Fermentes ist der, dass man es mit einer reinen Fibrinogenlösung bei Gegenwart von Kalksalzen zusammenbringt.

Als Ersatz dafür kann man aber auch andere Flüssigkeiten benutzen.

Die serösen Transsudate enthalten kein Fibrinferment, wohl aber Fibrinogen. Sie gerinnen also nicht spontan, sondern erst bei Zuführung von Ferment.

Ferner kann man Blut frei von Fibrinferment darstellen.

Einerseits gelingt dies beim Pferdeblut, das langsam gerinnt, durch schnelles Abkühlen und Absitzenlassen der Blutscheibchen bei 0°. Noch besser eignet sich Vogelblutplasma, wenn es in sauberen Gefässen unter strenger Vermeidung von Staub und Berührung mit Gewebssaft aufgefangen wird; es gerinnt dann äusserst langsam und kann durch schnelles Centrifugiren von den Blutkörperchen befreit werden, bevor sich Fibrinferment bildet (Delezenne[5]), Bordet und Gengou[6])). Die Details der Gewinnung siehe bei Fuld (l. c.) Beim Kaninchenblut gelingt es durch Auffangen und schnelles Centrifugiren, alles in gut paraffinirten

1) A. Schmidt, Weitere Beitr. z. Blutlehre. Wiesbaden 1895.
2) Arthus und Pagès, Arch. d. phys. (5.) II. 739 (1890).
3) Lilienfeld, Z. phys. Ch. XX. 89 (1894).
4) Hammarsten, Z. phys. Ch. 22. 333 (1896/97).
5) Delezenne, Arch. de phys. IX. 333; ferner Soc. Biol. 48. 782 (1896).
6) Bordet und Gengou, Ann. Inst. Past. XV. 129 (1901).

Gefässen, ein Plasma zu gewinnen, das sich bis zu 30 h ungeronnen erhält (Bordet und Gengou). Sobald man es aber mit der Glaswand in Berührung bringt, gerinnt es, auch wenn gar keine Zellen vorhanden sind. Die Paraffinirung kann also nicht etwa auf den Zerfall der Leukocyten schützend wirken. Wahrscheinlich ist Zymogen vorhanden, das aber erst langsam, schnell durch Berührung mit dem Glas activirt wird. Auch Magnesiumsulfat (1 ges. Lösung auf 3 Blut) verhindert die Gerinnung, und diese Mischung kann nach dem Verdünnen auf das 20 fache als Reagens für Fibrinferment benutzt werden.

Arthus[1]) setzt zu Hundeblut 3 ‰ Natriumfluorid und centrifugirt. Das so erhaltene Plasma enthält weder Thrombase, noch ihr Zymogen, gerinnt aber trotz der Anwesenheit des Fluornatriums schnell bei Zusatz von Fibrinferment. Es enthält auch kein Zymogen, da es auch nach Zusatz überschüssiger Mengen von löslichen Kalksalzen nicht gerinnt.

Dieses Fluoridplasma ist leicht herzustellen und wegen der antiseptischen Beimischung besser haltbar als die anderen Reagentien. Es ist sehr empfindlich als Nachweis. Nach Fuld ist auch Oxalatplasma des Pferdes brauchbar. Fuld giebt indessen an, dass Fluornatrium das Vogelblutplasma gegen Fibrinferment ungerinnbar macht.

Vorkommen des Ferments. Es ist in freier Form in jedem Serum enthalten, fehlt aber in jedem mit genügender Schnelligkeit ungerinnbar gemachtem Plasma (s. o.).

Dagegen enthalten die meisten nicht spontan gerinnenden Blutplasmate sein Zymogen, die Prothrombase (s. u.). In anderen serösen Flüssigkeiten, wie z. B. Transsudaten, Hydroceleflüssigkeit, fehlt es völlig (auch das Zymogen).

Ebenso in allen Macerationen der Organe von Säugethieren[2]); es findet sich aber im Muskelplasma der Vögel.

Darstellung des Ferments. A. Schmidt gewann es zunächst durch Alkoholfällung und Extrahiren mit Wasser, wobei ein Theil der Eiweisssubstanzen unlöslich bleibt.

Hammarsten[3]) fällt zunächst die Globuline durch Magnesiumsulfat; das Filtrat wird mit Wasser verdünnt und durch verdünnte Natronlauge ein an Fibrinferment reicher Niederschlag von Magnesiumhydrat gefällt. Später (l. c.) verwendete er einfach entkalktes Serum oder ebensolche Lösungen von Serumglobulinen.

1) Arthus, Soc. Biol. 53. 962 (1901); ferner Journ. de phys. et path. III. 887 (1901).
2) Arthus, l. c.
3) Hammarsten, Pflüg. Arch. XVIII. 38 (1878).

Pekelharing[1]) dialysirt das Filtrat vom Magnesiumsulfatniederschlag und fällt mit Essigsäure.

Fuld[2]) (l. c.) gewann das Ferment aus Vogelmuskeln durch Zerreiben mit Glasscherben und Extraction mit 0,8 proc. Kochsalzlösung.

Eigenschaften des Ferments. Es ist noch sehr wenig bekannt. Versuche zu seiner Reindarstellung und näheren Charakterisirung sind noch kaum angestellt worden, wenn man von den als Ferment angesprochenen Nucleoproteïden (s. u.) absieht.

Es ist sehr labil und geht beim Aufbewahren in sein Zymogen über. Nach Fuld hält sich das Vogelferment nicht einen Tag.

Es scheint mehrere artverschiedene Fibrinfermente zu geben, wie besonders aus dem verschiedenen Verhalten gegen die Antifermente hervorgeht (s. u.)

Chemische Natur des Ferments. Ueber diesen Punkt herrscht eine ähnliche Verschiedenheit der Ansichten wie bei allen anderen Enzymen.

Während es anfangs einfach zu den Globulinen gerechnet wurde, schreiben ihm Andere eine complicirte Structur zu. Nachdem schon Pekelharing, Wright[3]) und Lilienfeld ihm die Constitution eines Nucleoproteïds zugeschrieben hatten, versuchte Huiskamp[4]) das von ihm gefundene Nucleoproteïd des Serums, resp. dessen Calciumverbindung als das Fibrinferment hinzustellen.

Bei der Pepsinverdauung entstehen Nucleïne oder Pseudonucleïne. Indessen ist die Identificirung dieser Nucleoalbumine mit dem wirklichen Fibrinferment durchaus noch nicht sicher gelungen.

Entstehung des Ferments, Prothrombase. Das Fibrinferment soll aus einem im Plasma vorhandenen Zymogen, der Prothrombase, unter dem Einfluss löslicher Kalksalze entstehen.

Im Plasma ist das Ferment selbst nicht enthalten; infolge dessen gerinnt auch das Blut nicht innerhalb der Gefässe, solange die Wand glatt und gesund ist. Unter dem Einfluss der umgewandelten Bedingungen nach dem Austritt des Blutes und bisweilen in Folge der Berührung mit der erkrankten Gefässwand bildet sich das Ferment.

Dieser Vorgang steht jedenfalls mit dem Zerfall von zelligen Blutbestandtheilen im Connex. Entweder geben diese beim Absterben direct das Ferment ab. oder sie sondern, wie C. Schmidt

1) Pekelharing, Verh. Akad. Amsterdam I. 1892.
2) Fuld, Hofm. Beitr. II. 514 (1902).
3) Wright, Lancet 1892. I. 457. 515.
4) Huiskamp, Z. phys. Ch. 32. 145 (1901); 34. 32 (1901-02).

annahm, nur eine zymoplastische Substanz ab, die aus dem Prothrombin das Thrombin activirt. Pekelharing dagegen neigt der Ansicht zu. dass das Prothrombin aus den Formelementen, Leukocyten oder Blutplättchen entsteht, wenn sie zerfallen, und dass dann die löslichen Kalksalze die Activirung der Thrombase bewirken. Diese Activirung lässt sich nach Fuld[1]) auch durch schwache Alkalien, vielleicht auch durch Säuren bewirken.

Welche Formbestandtheile des Blutes in diesem Sinne das Ferment erzeugen, ist noch nicht festgestellt.

In erster Linie liegt es nahe, an die Leukocyten zu denken, und thatsächlich werden diese meist dafür verantwortlich gemacht.

Indessen ist nach neueren Arbeiten die längst gehegte Vermuthung. dass die Blutplättchen eine individuelle Rolle bei der Fibrinbildung spielen, sehr wahrscheinlich geworden. Dass diese Gebilde dabei mitspielen, geht aus den mikroskopischen Befunden mit ziemlicher Sicherheit hervor, weil sich bei der Gerinnung die ersten sichtbaren Fibrinfäden stets strahlenförmig um ein Blutplättchen bilden, und von diesem aus nach den Seiten hin anwachsen. Indessen hielt man bisher die Blutplättchen nicht für volle Zellen, sondern für Detritusbildung aus echten Blutzellen (weissen oder rothen) und nach Manchen sogar für postmortale Gebilde. Diese Ansicht ist nach neuen Untersuchungen schwankend geworden, indem Deetjen[2]) an jedem Blutplättchen unter besonderen Bedingungen Kern, Protoplasma und amöboide Beweglichkeit auffand und sie demzufolge als echte Zellen ansieht. Damit ist für die Frage ihrer Betheiligung an der Fibrinbildung eine neue Perspective eröffnet.

Die Herleitung der Prothrombase aus zerfallenden Blutzellen wird auch besonders durch Versuche von Arthus[3]) gestützt, der mit Hilfe seiner Fluoridmethode (s. u.) nachweisen konnte, dass das Blut im Moment des Ausströmens kein Fibrinferment und kein Zymogen enthält.

Durch Zusatz von Natriumfluorid (3 ‰) lässt sich die weitere Bildung des Ferments momentan sistiren, während sie ohne diesen Zusatz immer weiter fortschreitet und schliesslich nach der Coagulation im Serum mehr vorhanden ist, als vorher im Plasma. Auch im defibrinirten Blute bildet sich immer neues Ferment.

Dagegen wird durch Oxalat (1 ‰) und Citrat (4 ‰) die Bildung der Prothrombase nicht gestört. Die durch diese Salze erhaltenen

1) Fuld, Biochem. Centralbl. I. Heft 4 (1903).
2) Deetjen, Virchow's Arch. 164. 239 (1901).
3) Arthus, Soc. Biol. 53. 1024 (1901).

Plasmata gerinnen zwar nicht, weil sie kein freies Fibrinferment enthalten, aber sie enthalten Zymogen; denn wenn man jetzt einen Ueberschuss von löslichen Kalksalzen oder Strontiumsalzen zusetzt, so tritt Gerinnung ein, da die Kalksalze das Zymogen activiren. Die Gerinnung selbst wird durch Entziehung der Kalksalze nicht beeinflusst, denn wenn man zu (fermenthaltigem) Serum nunmehr Oxalat zusetzt und dieses Oxalatserum mit Oxalatplasma mischt, so tritt Gerinnung ein (Arthus). Durch Abkühlen auf unter 0° scheidet sich nach Hammarsten der grösste Theil der Prothrombase aus; ebenso wird sie bisweilen durch ausfallendes Calciumoxalat mitgerissen.

Im Fluoridplasma bleibt die Gerinnung nach Zusatz von Kalksalzen aus, da dieses überhaupt kein Zymogen enthält, tritt aber bei Serumzusatz ein. Bei Vögeln aber hemmt das Fluorid jede Gerinnung[1]). Das Oxalat wirkt direct durch Fällung kalkentziehend; wieso das Citrat, das keinen Niederschlag giebt, ebenfalls die Activirung des Zymogens verhindert, ist noch nicht sicher aufgeklärt.

Wirkungsweise des Ferments.

Das Fibrinferment wirkt am besten bei ca. 40°, wird bei 65—70° zerstört, ebenso das Proferment.

Oxalate wirken nach Hammarsten (l. c.) auch direct hemmend auf die Fermentwirkung, nicht blos durch Entziehung des Kalkes. Deshalb tritt in Oxalatplasma durch schwaches Ferment häufig keine Gerrinnung ein, ein Umstand, der theoretisch zu schwerwiegenden Missverständnissen geführt hat.

Fuld (l. c.) hat das Zeitgesetz des Fibrinferments am Vogelblutplasma untersucht:

Die Gerinnungszeit fällt mit zunehmender Fermentmenge; sie ist ihr aber nicht umgekehrt proportional wie beim Lab; vielmehr entspricht einer Fermentzunahme um das Doppelte die Zunahme der Geschwindigkeit um die Hälfte. Der aus dieser Regel gewonnene mathematische Ausdruck nähert sich sehr der Schütz'schen Regel für das Pepsin, dass die Geschwindigkeit der Wurzel aus der Fermentmenge proportional wächst. Bei geringen Enzymmengen stimmt die Regel garnicht; andere Regeln sind nicht zu erkennen, wenigstens bei Bruttemperatur. Bei Zimmertemperatur stimmt die Regel bisweilen auch für geringe Enzymwirkungen.

Chemismus der Wirkung, Bedeutung der Kalksalze.

Das Wesen der Blutgerinnung ist zunächst sicherlich eine Umwandlung des von Hammarsten rein dargestellten Fibrinogens des

1) Fuld, Biochem. Centralbl. I Heft 4 (1903).

[illegible] mit dem bei 25 % Ammonsulfatsättigung aus dem [illegible] Fibringlobulin identisch ist, in den unlöslichen [illegible].

[illegible] diese Umwandlung eine hydrolytische Spaltung des Fibrinogens [illegible] ist zum mindesten sehr zweifelhaft: der etwa entstehende [illegible] Bestandtheil ist noch nicht nachgewiesen: die Albumose [illegible] existirt wohl schwerlich. Die ältere Anschauung [illegible], dass sich bei der Gerinnung aus dem Fibrinogen [illegible] bilde, würde ergeben, dass nur ca. 50 % [illegible] als Fibrin wieder erscheinen, während es nach Hammarsten [illegible] mindestens 90 % sind.

Hammarsten steht dem zufolge auf dem Standpunkte, dass bei [illegible] sich nur eine Umwandlung des Fibrinogens, etwa [illegible]coagulation, vollzieht. Dafür spricht, dass irgend [illegible] Unterschiede in den Analysenzahlen von Fibrin und [illegible] zu constatiren sind. Dass ein zweiter Eiweisskörper [illegible] in Lösung bleibt, das Fibringlobulin Hammarsten's, [illegible] zurückgeführt, dass ein Theil des Fibrins in Lösung bleibt; [illegible] der Ausfällung entzieht, wechselt je nach den [illegible]verhältnissen sehr stark. Hammarsten konnte aus derselben [illegible]lösung einmal 63,6 %, das andere Mal 81 % als [illegible] wiederfinden.

[illegible] der Gerinnung im Serum sich findenden Eiweisskörper [illegible] Fibrinogen identificirt, da er die gleichen Fällungs[illegible] Fibrinogen des Plasmas (1/4 Sättigung mit Ammon[illegible] NaCl) besitzt. Hammarsten weist diese Iden[illegible] Coagulationstemperatur (64—66°) verschieden von [illegible] ist, vor Allem aber, weil dieses Fibringlobulin mit [illegible] mehr gerinnt.

[illegible] Rolle der Kalksalze ins Klare zu kommen, hat un[illegible] Mühe gemacht, und auch jetzt noch sind nicht alle [illegible].

[illegible] der unhaltbaren Theorie Lilienfeld's (s. o.) und [illegible] Ansicht von A. Schmidt, dass die Kalk[illegible] gleichgültig sind, standen sich namentlich zwei Theorien [illegible] Während nämlich Arthus die Umwandlung des Fibri[illegible] dessen Ausscheidung von der Gegenwart lös[illegible]abhängig machte, schrieb Pekelharing[4]) ihnen in

[illegible] Arch. exp. Path. 39. 1 (1897).
[illegible] phys. Ch. 28. 98 (1899).
[illegible] und Bestimmung des Fibrinogens. Diss. Strass[illegible]
[illegible] Festschrift f. Virchow. I. 1891.

dieser Hinsicht gar keine Bedeutung zu, sondern .vindicirte ihnen einen entscheidenden Einfluss auf die Fermentbildung aus der Prothrombase.

Beide aber waren darin einig, dass der Kalk in das Fibrin mit eintritt, dass das Fibrin eine Eiweisskalkverbindung analog dem Paracaseïn darstelle.

Diese Grundanschauung ist aber von Hammarsten erschöpfend widerlegt worden. In der bereits mehrfach citirten Arbeit stellte er Folgendes fest:

Die Kalksalze wirken thatsächlich specifisch und sind nur noch durch Strontiumsalze, nicht aber durch andere Neutralsalze zu ersetzen.

Die Kalksalze haben für die Umwandlung des Fibrinogens gar keine Bedeutung, sobald fertiges Ferment vorhanden ist.

Sowohl kalkfreies Blutplasma als auch kalkfreie Fibrinogenlösungen, aus denen ein allzugrosser, direct schädlicher Ueberschuss von Oxalat entfernt ist, geben mit kalkfreien Fermentlösungen typische Fibringerinnung.

Ferner konnte er zeigen, dass solches aus kalkfreien Lösungen[1]) gewonnenes Fibrin nicht mehr Kalk enthält wie das Fibrinogen. Dieser Kalkgehalt ist ganz ausserordentlich gering[2]) (0,007—0,01 %), und zweifellos ohne jeden Belang.

Mit diesen Feststellungen fallen alle Theorien, die eine Nothwendigkeit der Kalksalze für den Process der Fibrinbildung annehmen, ebenso wie die Auffassung von der Natur der Fibrins als Eiweisskalkverbindung.

Andererseits hat aber Hammarsten gezeigt, dass eine keine Prothrombase enthaltende Flüssigkeit durch Zusatz von Kalksalzen nicht gerinnt, also eine directe Einwirkung von Kalksalzen (ohne Ferment) ebenfalls auszuschliessen ist, dass aber eine Gerinnung eintritt, sobald man zu einer kalkfreien, zymogenhaltigen Flüssigkeit lösliche Kalksalze zusetzt.

Ferner konnte Hammarsten zeigen, dass die Kalksalze auch auf die Geschwindigkeit der Reaction von Einfluss sind, indem sie in kleineren Dosen fördernd, in grösseren verlangsamend wirken, ohne die Menge des entstehenden Fibrins zu beeinflussen.

Insofern behält also Arthus Recht, dass die Kalksalze zur Gerinnung nöthig sind, und Pekelharing, der ihre Bedeutug darin sucht, dass sie das Proferment activiren.

1) Es handelt sich hierbei stets um die löslichen, durch Oxalat fällbaren Kalksalze, nicht um die organisch oder sonstwie fest gebundenen.

2) Hammarsten, Z. phys. Ch. 28. 98 (1899).

Alle weitergehenden Schlüsse dieser Forscher sind dagegen abzulehnen.

Die Kalksalze haben also bei der Blutgerinnung eine wesentlich andere Bedeutung wie bei der Labgerinnung. Dort sind sie für die Fermentbildung zweifellos ohne Belang, ebenso für die fermentative Umwandlung des Caseïns in Paracaseïns; nur für die Ausfällung sind sie von Bedeutung.

Fassen wir die heute giltige Anschauung über die Fibrinfermentwirkung nochmals zusammen, so erhalten wir folgende Leitsätze:

Nach dem Austritt des Blutes aus seiner natürlichen Bahn entsteht durch Zerfall von weissen Blutkörperchen oder von Blutplättchen ein Proferment.

Dessen Bildung ist nach Arthus durch Fluoride zu verhindern; beim Vogelblut schon durch vorsichtiges Auffangen und schnelles Centrifugiren.

Aus diesem Zymogen entsteht durch lösliche Kalksalze das wirksame Ferment.

Infolge dessen hemmt Oxalatzusatz die Bildung des Fermentes.

Das einmal gebildete Ferment verwandelt Fibrinogen in Fibrin ohne Hilfe von Kalksalzen. Das Oxalat wirkt hierbei an sich schwach hemmend.

Das Antifibrinferment.

Bordet und Gengou (l. c.) gelang es durch Injection von fibrinfermenthaltigem Serum ein specifisches Antiferment zu gewinnen. Wenn sie Meerschweinchen normales Kaninchenserum injicirten, so erlangte nach einigen Injectionen das Serum dieses Meerschweinchens die Fähigkeit, die Coagulation des Kaninchenblutes zu sistiren, und zwar durch eine specifische Einwirkung auf das Ferment, nicht durch Einwirkung auf das Fibrinogen. Analog wirken Injectionen von Oxalatplasma, das direct vor der Injection mit Chlorcalcium versetzt wurde.

Als Reagens diente Vogelblutplasma. Wenn man zu diesem Plasma ein Gemenge von frischem Kaninchenserum (als Fermentträger) und auf 58° erwärmtem, also von activem Fibrinferment befreitem, normalen Meerschweinchenserum zusetzt, so gerinnt es. Ersetzt man aber das normale durch ein auf 58° erwärmtes Meerschweinchenserum von einem vorbehandelten Thiere, so bleibt die Gerinnung aus; das Serum enthält einen bei 58° beständigen, specifischen Antikörper. Dieselben Verhältnisse fanden sich bei Hund und Hammel wieder.

Normale Sera scheinen das Antiferment nur spärlich oder gar nicht zu enthalten.

Im nicht erhitzten Immunserum kommt das Antifibrinferment gar nicht zur Geltung in Bezug auf die coagulirende Wirkung auf Gänseplasma, das ganz normal gerinnt. Es ist also kein Antikörper gegen das eigene Ferment des immunisirten Thieres gebildet. Die Immunsera müssen also stets vor der Prüfung von ihrem eigenen activen Ferment befreit werden, indem man sie auf 58° erwärmt.

Die Antifermente sind in Hinblick auf die Sera verschiedener Thierarten ziemlich specifisch. Zwar wirkt das Antiferment, das durch Kaninchenserum erhalten ist, auch noch, wenngleich schwächer, auf das Ferment des Meerschweinchens ein, dagegen nur äusserst schwach auf das des Hundes und gar nicht auf das des Hammels. Das Antimeerschweinchenferment wirkt nicht auf Kaninchenferment.

Die Beziehungen sind nachweisbar quantitative. Wenn man eine geringe Menge frischen Kaninchenplasmas in Meerschweinchenimmunserum einbringt, bleibt es flüssig; wenn aber ein Ueberschuss von Fibrinferment dazu kommt, gerinnt das Blut.

Das frische, nicht erhitzte Immunserum vom Meerschweinchen hat auch eine verzögernde Wirkung auf die Gerinnung von Kaninchenblutplasma, schliesslich aber erfolgt Gerinnung. Diese Verzögerung erklärt Bordet aus einer Einwirkung auf das Fibrinogen, das unter dem Einfluss des nicht erhitzten Immunserums ausfallen soll. Diese Einwirkung auf das Fibrinogen ist aber von sehr geringem Einfluss; sie kann die Gerinnung nur verzögern, nicht hindern, sobald Fibrinferment vorhanden ist. Diese Eigenschaft des Immunserums findet sich übrigens so gut wie garnicht, wenn nicht mit Plasma, sondern mit Serum immunisirt wurde.

Pectase ist ein Enzym, das die Coagulation pectinhaltiger pflanzlicher Stoffe bedingt.

Es wurde zuerst von Fremy[1]) beobachtet, der eine lösliche Form des Ferments in Mohrrüben und anderen Rüben, eine unlösliche in sauren Früchten fand. Die Fermentation geht ohne Luftzufuhr, ohne Gasentwicklung vor sich, am besten bei 30°. Bertrand und Mallèvre[2]) haben es dann näher untersucht. Sie fanden es weit verbreitet in vielen Pflanzen, auch bei Kryptogamen, und stellten fest, dass ein Gerinnsel von pectinsaurem Kalk eintritt, wenn die Pflanzensäfte stehen blieben. Aufkochen oder Ausfällen des Kalkes hinderte die Coagulation, die aber auch durch Baryum- oder Strontiumsalze eingeleitet werden konnte. Die Lösung muss neutral sein, da Säuren das Ferment schnell schädigen. Goyaud[3]) hält dagegen die Kalksalze für entbehrlich.

Es bilden sich dabei Pectinsäuren.

1) Frémy, Journ. d. pharm. 26. 392.
2) Bertrand und Mallèvre, C. R. 119. 1012; 120. 110; 121. 726.
3) Goyaud, C. R. 135. 537 (1902).

Fünfzehntes Capitel.

Die sacharificirenden Fermente.

Unter diesem Gruppennamen kann man eine Anzahl von Enzymen zusammenfassen, deren Thätigkeit sich auf die Kohlehydrate erstreckt. Sie besitzen die Fähigkeit, aus den complexeren Stoffen dieser Reihe einfachere herzustellen.

So wird aus der Stärke durch Diastase Maltose und Dextrin, aus der Maltose durch die Maltase Glucose, aus Rohrzucker durch die Invertase Glucose und Fructose etc. Doch ist diese Specificität nur cum grano salis zu verstehen, da die Fermente auch geeignet sind, gewisse andere, ähnliche Stoffe zu spalten. Ihre Wirkung richtet sich auf einzelne Stoffe oder kleine Gruppen nahe verwandter Stoffe.

Das schliessliche Endproduct der Einwirkung dieser verschiedenen [illegible] sind stets einfache Aldosen oder Ketosen, meist ist eins der Spaltungsproducte Glucose.

Der Process selbst ist aufzufassen als eine einfache hydrolytische [illegible] analog der durch verdünnte Säuren bewirkten.

Die sacharificirenden Fermente sind in dem Thier- und Pflanzen- [illegible] Weise verbreitet und spielen im Haushalt der [illegible] sehr wichtige Rolle, indem sie aus den complexeren, [illegible] nicht verwerthbaren Kohlehydraten die einfachen [illegible] die dann das Lebewesen zu seinen vitalen Zwecken [illegible]. So spielen sie für die Kohlehydrate dieselbe Rolle [illegible] Fermente für die Eiweissstoffe. Zwar vertreten [illegible] Spaltung einige Autoren die Ansicht, dass sie [illegible] einer directen Zellthätigkeit zuzuschreiben sei, [illegible] nicht die Wichtigkeit der zuckerbildenden [illegible] der Lebewesen leugnen.

Nomenclatur. [illegible] die Benennung dieser Gruppe von Fer- [illegible] erzielt ist, so müssen wir uns zunächst [illegible] Nomenclatur verständigen.

Im Allgemeinen halten jetzt die Autoren an dem Princip fest, diese Fermente so zu bezeichnen, dass man ihren Namen mit dem Suffix —ase aus dem Namen des Stoffes bildet, auf den sie speciell hydrolytisch einwirken.

Folgerichtig müsste man darnach das stärkespaltende Ferment als Amylase bezeichnen. Indessen hat sich dafür der historische Name Diastase (den die Franzosen allerdings als Sammelnamen für alle Enzyme festhalten), so fest eingebürgert, dass man ihn nicht mehr ausmerzen kann.

Wir wollen also den Namen Diastase als Sammelnamen der stärkespaltenden Enzyme beibehalten.

Beyerinck[1]) will den Begriff Amylase als Sammelnamen aller der Fermente angewendet wissen, die bei der Umwandlung der Stärke bis in ihre letzten Spaltproducte eine Rolle spielen. Diesem Vorschlag muss ich aus zwei Gründen widersprechen. Erstens hat man es hier nicht mit einem einheitlichen Ferment, nicht einmal mit einer einheitlich wirkenden Gruppe von Fermenten zu thun, die man mit dem Namen „Amylase“ bezeichnen dürfte, sondern könnte höchstens „Amylasen“ sagen; vor Allem aber ist die natürliche Gruppirung nicht die Zusammenfassung der stärkespaltenden Fermente, sondern derjenigen, die aus Polysachariden Zucker bilden; die Inulinase, Cellulase etc. gehören eng dazu. Ich habe sie aus diesem Grunde als sacharificirende Fermente bezeichnet, wogegen nur der Einwand zu machen ist, dass auch die glucosidspaltenden Fermente Zucker bilden; doch ist diese Gruppe wieder eine so natürliche Einheit, dass man sie wohl als eigene Klasse von den sacharificirenden Fermenten im engeren Sinne lostrennen darf. Zu den „sacharificirenden Fermenten“ gehören dann ausser den stärkespaltenden diejenigen Enzyme, die andere Polysacharide in einfachere Zucker überführen. Dem oben erwähnten Princip gemäss richtig benannt sind die Inulinase, Pectinase, Seminase (eigentlich Semininase, da das Horneiweiss des Samen als Seminin bezeichnet wird), Lactase, Trehalase, Melibiase und Maltase. Dagegen wird das cellulosespaltende Ferment von den Autoren nicht consequenter Weise als Cellulase bezeichnet, sondern als Cytase oder als cytohydrolytisches Ferment, doch sehe ich keinen Grund, diesen farblosen Namen dem präcisen Ausdruck Cellulase vorzuziehen. Für das Enzym des Rohrzuckers ist der historische Name Invertin in seiner modernen Umformung Invertase so eingebürgert, dass weder der von den Franzosen dafür häufig gebrauchte

---

1) Beyerinck, C. f. Bact. (2.) I. 221 (1895).

Name Sucrase noch der principiell beste Sacharase sich mit Erfolg dafür substituiren lässt.

Eine besonders unheilvolle Confusion ist über den Begriff der Maltase dadurch entstanden, dass Wijsmann und Beyerinck unter Maltase ein Enzym verstehen, das Stärke, und zwar in Erythrodextrin und Maltose spaltet. Daneben soll noch ein anderes stärkelösendes Enzym existiren, das Achroodextrin (nach Beyerinck neben Maltose) aus Stärke bildet. Wijsman hat es als Dextrinase, Beyerinck als Granulase bezeichnet. Dextrinase ist direct falsch, da es Dextrine nicht spaltet, sondern bildet, Granulase ist ein völlig farbloses Wort. Vorausgesetzt, dass die Annahme zweier Fermente an Stelle der Diastase richtig ist, wäre es wohl am zweckmässigsten, beide als Amylase zu bezeichnen, um damit ihr gemeinsames Substrat Stärke zu kennzeichnen, und als Erythroamylase und Achrooamylase sie in prägnanter Weise zu unterscheiden. Die eigentliche Maltase wird von Vielen als Glucase bezeichnet; ein ganz verfehlter Terminus, da sie Glucose nicht spaltet, sondern erzeugt, und diese Eigenschaft kann man, selbst abgesehen von dem oben genannten Princip, nicht als Grundlage der Benennung wählen, da Glucose fast von allen saccharificirenden Enzymen gebildet wird.

v. Lippmann[1]) schlägt zur Vermeidung aller Missverständnisse vor, die Enzyme mit Doppelnamen zu bezeichnen, derart, dass die erste Hälfte von dem zu spaltenden Substrat, die zweite von dem hauptsächlich gebildeten Product entnommen wird, z. B. Amylomaltase, Inulofructase etc. Nöthig ist indessen diese Complication der Enzymbenennung nicht, wenn man sonst nur eine consequente Bezeichnung durchführt, abgesehen davon, dass es schwer ist zu sagen, welches Spaltproduct nun gerade das charakteristische ist. v. Lippmann supponirt damit geradezu neue Enzyme, z. B. Amyloglucase u. a., die noch garnicht nachgewiesen sind.

Untersuchung der Wirksamkeit. Um die Wirksamkeit der saccharificirenden Fermente zu untersuchen, bedient man sich im Wesentlichen dreier Methoden.

Die nächstliegendste ist natürlich die Untersuchung des Fermentgemisches in einem gewissen Stadium der Einwirkung auf chemischem Wege, indem man versucht, die entstandenen Producte als solche oder in charakteristischen Verbindungen, besonders als Hydrazone und [illegible] zu identificiren; oder indem man aus Messungen der reducirenden Kraft und der optischen Drehung Rückschlüsse auf Natur [illegible] der Zucker macht. Ein noch einfacheres, aber [illegible] Verfahren in demselben Sinne ist die Anwendung von [illegible] z. B. durch die Jodprobe das Verschwin-

1) [illegible] Ber. 36 331 (1903).

den von Stärke oder durch die Moore'sche Probe das Auftreten von Zuckern zu erkennen.

Obwohl diese genaue chemische Untersuchung theoretisch natürlich das Ideal wäre, stösst sie doch in der Praxis auf grosse Schwierigkeiten, weil es sehr mühselig und unsicher ist, die einzelnen Kohlehydrate von einander zu trennen; und so sehen wir auch heute noch viele wichtige Fragen auf diesem Gebiete, wie z. B. die nach der Existenz der Isomaltose, ungelöst, obwohl wir in der Osazonprobe ein Mittel gewonnen haben, das einige vorher dunkle Probleme, z. B. die Existenz der Maltase, mit einem Schlage erleuchten konnte.

So hat man denn nach Methoden gesucht, um Einzelheiten im Reactionsverlauf, besonders die Entstehung eines bestimmten für die Wirksamkeit eines gesuchten Enzyms entscheidenden Kohlehydrates unabhängig von einer completen Analyse nachzuweisen. Hierher gehört besonders die auxanographische Methode von Beyerinck[1]). Beyerinck weist die Existenz von z. B. Glucose nach, indem er Pilze, die nur auf Glucose (und der bei diesen Versuchen nicht in Betracht kommenden Fructose) wachsen, auf dem zu untersuchenden Gemisch aussät. Wachsen sie, so ist Glucose vorhanden, bleibt die Cultur steril, so fehlt sie. Aul diese Weise kann man z. B. Glucose neben Maltose durch Sacharomyces apiculatus nachweisen, der Maltose nicht angreifen kann.

Die dritte Methode ist besonders von Wijsman zur Demonstrirung seiner zwei stärkespaltenden Enzyme angewendet worden und beruht auf der Diffusion. Man tränkt Gelatineplatten mit dem zu fermentirenden Substrat (Stärke) und bringt einige Tropfen der Fermentlösung auf einen Punkt dieser Platte. Dann diffundirt das Ferment langsam in die Stärkegelatine hinein und vollzieht dort seine Wirkung. Wendet man nun eine Farbenreaction an, die das ursprüngliche Substrat anders färbt als die Spaltungsproducte, so entsteht um den Ort, wo man das Ferment hingebracht het, ein Kreis, der anders gefärbt ist, als die übrige Gelatinemasse, z. B. bei einer Jodfärbung bei Stärke farblos gegen das Blau der Stärke. Sind verschiedene dasselbe Substrat angreifende Fermente vorhanden, die verschieden schnell diffundiren, so entstehen noch Differentialfärbungen verschiedener Zonen (s. u. bei Wijsman's „Maltase").

Diastase (Amylase).

Unter dem Namen Diastase, Amylase oder amylolytisches Ferment versteht man ein Enzym oder wohl eher mehrere ähnlich

1) Beyerinck, C. f. Bact. (2.) I. 221 (1895).

wirkende Enzyme, die die Fähigkeit haben, aus der Stärke durch einen hydrolytischen Process Maltose und Dextrine zu erzeugen.

Die Diastase findet sich in vielen pflanzlichen und thierischen Organen und Secreten, vor Allem im Malz, in Kryptogamen, im Speichel, in dem Pankreas und der Leber. Am längsten bekannt und am eingehendsten untersucht ist die Malzdiastase.

Die wissenschaftliche Entdeckung und die Namengebung der Diastase geschah im Jahre 1833 durch Payen und Persoz[1]), nachdem die Verzuckerung der Stärke durch Malz bereits von Irvine[2]) und Kirchhoff[3]) beobachtet war, und fast gleichzeitig mit ihnen Saussure[4]) den stärkelösenden Stoff untersucht und als an das Mucin des Klebers gebunden angenommen hatte. Die wesentlichsten Thatsachen hatte dann Dubrunfaut[5]) schon erforscht. Payen und Persoz versuchten durch Ausfällen mit Alkohol zu einer reineren Substanz zu gelangen.

Aehnlich verfuhren Dubrunfaut[6]), Baranetzki[7]) und Duquesnel[8]). Mit den anderen Methoden der Enzymdarstellung versuchten Cohnheim[9]) (nach der Brücke'schen Pepsinbereitungsmethode, s. d.), Zulkowsky[10]) durch Ausschütteln der wässrigen Extracte mit Aether, wobei sie eine „froschlaichartige Gallerte" erhielten, und schliesslich Fällen mit Alkohol, später[11]) durch Glycerinauszüge, die mit Alkohol gefällt wurden, zu brauchbaren Diastasepräparaten zu gelangen.

Am besten unter den älteren Methoden ist die von Lintner[12]). Er extrahirte längere Zeit mit 20 procentigem Alkohol, fällte direct oder fractionirt mit Alc. absol. und verrieb das Präparat mit Alc. absol. und Aether. Die Präparate wurden dann noch mehrfach in Wasser gelöst und wieder gefällt. Er erhielt stets sehr aschenhaltige Präparate (ca. 10 %), die dann durch Dialysiren von einem Theil der Asche befreit werden konnten. Ca. 5 % neutrales Calciumphosphat blieben indess stets zurück. Glycerinextracte gaben sehr schwach

---

1) Payen und Persoz, Ann. d. chim. et phys. 53. 73.
2) Irvine, cit. n. Payen und Persoz, l. c.
3) Kirchhoff, Schweigg. Journ. XIV. 389 (1815).
4) Saussure, Poggendorff's Ann. 32. 194 (1834), Z. Geschichte der Diastase s. Dubrunfaut, Z. gesamt. Brauw. 1880. 99.
5) *Dubrunfaut, Mem. sur la sacharification. Soc. d. Agricult. Paris 1823.
6) Dubrunfaut, Dingler's polyt. Journ. 187. 491 (1868).
7) Baranetzki, Die stärkeumbildenden Fermente in den Pflanzen. Leipzig 1878. S. 10.
8) *Duquesnel, Bull. d. Thérap. 87. 20.
9) Cohnheim, Virch. Arch. 28. 241 (1863).
10) Zulkowsky und König, Wiener acad. Sitzb. Math.-Nat. Kl. 71. II. 453.
11) Zulkowsky, ibid. 77. II. 647.
12) Lintner, Journ. prakt. Ch. N. F. 34. 378; 36. 481 (1886/87).

wirksame Fermentlösungen. Osborne und Campbell[1]) haben durch Aussalzen mit Ammonsulfat, Wróblewski[2]) durch Extraction mit schwächerem und Fällen mit starkem Alkohol Diastasepräparate dargestellt, die er dann zur Gewinnung reiner Präparate noch weiteren Reinigungsprocessen unterzog (s. u.).

Grüss[3]) erhielt diastatisch wirkende Glycerinlösungen, indem er ganz dünne Schnitte von Pflanzenkeimlingen lange in Glycerin liegen liess, wobei die Diastase langsam, indess ziemlich frei von Gerbstoffen und Maltose in das Glycerin hineindiffundirt.

Eigenschaften der Diastase. Ueber die Natur des Enzyms gehen die Ansichten weit auseinander.

Während viele Forscher, wie Loew[4]), Brown und Heron[5]), Schwarzer[6]) Osborne[7]) die Diastase für einen Eiweisskörper halten, und einige, Mulder (l. c.), Baranetzki (l. c. S. 54), Seegen und Kratschmer[8]), Bizio[9]), der aus Glycogen durch „Eiweissstoffe" reducirenden Zucker erhielt, u. A. den Eiweisskörpern im Allgemeinen diastatische Kraft zuschreiben, halten Barth[10]), Lintner[11]), Hüfner[12]) sie für wesentlich verschieden von den Eiweissstoffen, indessen für Oxydationsproducte derselben.

Als thierisches Gummi oder einen diesem ähnlichen Stoff sprachen Landwehr und sein Schüler Hirschfeld[13]) die Diastase an: doch ist diese Ansicht sicher falsch, da die Diastase Stickstoff enthält. Sie haben wohl hauptsächlich das die Diastase begleitende Polysacharid in Händen gehabt.

Wróblewski[14]) unterzieht in seiner umfangreichen Arbeit die früheren Untersuchungen einer Kritik und glaubt nunmehr mit voller Sicherheit den Nachweis geführt zu haben, dass die Diastase ein den Al-

---

1) Osborne und Campbell, Journ. Americ. Chem. Soc. XVIII. Chem. Ber. 29. (4.) 1159 (1896).
2) Wróblewski, Z. phys. Ch. 24. 173.
3) Grüss, Jahrbüch. f. wissensch. Botanik. 26. 379.
4) Loew, Pflüg. Arch. 27. 203.
5) Brown und Heron, Liebig's Ann. 199. 249.
6) Schwarzer, J. pr. Ch. [2.] I. 212 (1870).
7) Osborne, l. c.
8) Seegen und Kratschmer, Pflüg. Arch. XIV. 593.
9) Bizio, C. R. 65. 175.
10) Barth, Chem. Ber. XI. 474.
11) Lintner, l. c.
12) Hüfner, J. pr. Ch. [2.] V. 372.
13) Hirschfeld, Pflüg. Arch. 39. 499.
14) Wróblewski, Z. phys. Ch. 24. 173.

bumosen nahestehender Eiweisskörper ist. Das erste Präparat, das er erhielt, war noch ein Gemisch von Proteïn mit dextrinähnlichen Stoffen, das zu trennen ihm mit Hilfe von Kaliumquecksilberjodid gelang (l. c. S. 203). Das beigemengte Kohlehydrat erwies sich als ein Pentosan, lieferte mit verdünnter Schwefelsäure Arabinose, muss also als ein Araban aufgefasst werden. In einer neueren Untersuchung hat er die Diastase noch reiner erhalten durch fractionirtes Aussalzen mit Ammoniumsulfat[1]).

Dieses Präparat zeigt eine ausserordentliche Wirksamkeit, giebt die meisten Eiweissreactionen (Salpetersäure-, Millon'sche, Biuret- und Xanthoproteïnreaction) und enthält 16,53 % N. Gerbsäure fällt sie aus, was schon Dubrunfaut[2]) erkannt hatte. Das noch nicht völlig reine Präparat giebt bei der Spaltung mit Zinnchlorür Leucin und Tyrosin, sowie wahrscheinlich auch Arginin.

Sie ist, allerdings wenig, diffusibel (Krabbe[3])), nicht aber durch lebendes Protoplasma junger Pflanzenkeimlinge (Grüss[4])).

Analysen der Diastase liegen vor von Donath[5]), Zulkowski (l. c.) u. A., doch zeigen sie keine Uebereinstimmung und sind bei der zweifellosen Unreinheit der Präparate wertlos.

Durch Säuren und Alkalien wird sie natürlich zerstört, schon in relativ geringer Concentration.

Pepsin zerstört sie, nicht aber Trypsin (Wroblewski[6])).

In trockenem Zustande kann sie bis auf ca. 150° erhitzt werden, bei 158° verliert sie ihre Wirksamkeit (Hueppe[7])).

Dagegen wird sie in wässriger Lösung, wie alle Enzyme, bei ca. 80° sicher zerstört, doch sind die einzelnen Zahlenangaben sehr different. Sicher ist, dass auch die Diastase, wie die Fermente gewöhnlich, gegen den Einfluss hoher Temperaturen durch die Anwesenheit ihres specifischen Substrates in gewissem Sinne geschützt wird, so dass der Zerstörungspunkt dadurch heraufgerückt wird (Lintner[8])).

Bestimmung der diastatischen Wirksamkeit. Quantitative Bestimmungen der durch die Diastase entstehenden Mengen von Mal-

1) Wróblewski, Chem. Ber. **31**. 1130 (1898).
2) Dubrunfaut, Dingler's polytechn. Journ. **187**. 491 (1868).
3) Krabbe, Jahrb. f. wissensch. Bot. XXI. 520 (1890).
4) Grüss, ibid. XXVI. 379.
5) Donath, Chem. Ber. VIII. 795 (1875).
6) Wróblewski, Z. phys. Ch. **24**. 173.
7) Hueppe, cit. n. Fermi und Pernossi, Z. f. Hyg. XVIII. 83.
8) Lintner, J. prakt. Ch. N. F. **36**. 481 (1887).

tose sind u. A. von Musculus[1]), Payen[2]), Schwarzer[3]), O'Sullivan[4]), Baranetzki[5]) gemacht worden. Letzterer zeigte auch zuerst, dass auch die Stärkekörner von Diastase angegriffen werden, am schwersten Kartoffelstärke (l. c. S. 38).

Kübel[6]) wies den Zucker durch Gelbfärbung mit Natronlauge nach und bestimmte seine Menge vergleichend-colorimetrisch mit Hilfe einer Kaliumchromatlösung.

Cripps[7]) untersuchte den zeitlichen Verlauf der diastatischen Wirkung des Malzextracts, die sich auf verschiedene Stärkearten verschieden energisch äussert. Detmer[8]) prüfte den Fortgang der diastatischen Zerlegung durch die Jodreaction, die von Blau über Violett Roth, Gelb, zu Farblos übergeht.

Wróblewski[9]) benutzte zu diesem Zweck die sogenannte „lösliche Stärke", die er mitelst eines eigenen Verfahrens herstellte. Die entstehenden reducirenden Kohlehydrate wurden mit Fehling'scher Lösung erwärmt und die ausgeschiedene Kupfermenge nach der Allihn'schen Methode bestimmt.

Eine bequeme Methode zur Bestimmung der diastatischen Kraft des Malzextractes haben ferner Sykes und Mitchell[10]) angegeben.

Eine auf dem Verschwinden der Jodstärkereaction beruhende Methode der Diastasimetrie rührt von Roberts[11]) her.

Lintner[12]) hält die Jodreactionen nicht für geeignet, die diastatische Wirkung verschiedener Fermentlösungen zu vergleichen.

Er hat dafür ein Verfahren ausgearbeitet, das die reducirende Kraft des entstehenden Zuckers aus gleichen Stärkemengen zum Maassstab nimmt.

Er lässt von der auf ihre Wirksamkeit zu prüfenden Fermentlösung verschiedene Mengen auf gleiche Stärkemengen einwirken und bestimmt diejenige Quantität der Fermentlösung, die so viel Zucker erzeugt, dass eine bestimmte Menge Fehling'scher Lösung gerade noch reducirt wird.

---

1) Musculus, Ann. d. phys. et chim. (3). 60. 203.
2) Payen, ibid. (4.) IV. 286; VII. 382.
3) Schwarzer, J. pr. Ch. N. F. I. 212 (1870).
4) O'Sullivan, Journ. Chem. Soc. 1876. II. 125.
5) Baranetzki, l. c. S. 27 ff.
6) Kübel, Pflüg. Arch. 76. 276 (1898).
7) Cripps, Chem. Centralbl. 1890. I. 324.
8) Detmer, Z. phys. Ch. VII. 1 (1882).
9) Wróblewski, Z. phys. Ch. 24. 173.
10) Sykes und Mitchell, Analyst. 21. 122 (1896).
11) Genau beschrieben bei Gamgee, Physiol. Ch. d. Verdauung l. c. S. 55. s. a. Maly's Jb. XI. 356.
12) Lintner, J. prakt. Ch. N. F. 34. 378 (1886).

[illegible] ...tiven Kraft (F=100) nimmt er eine Diastase. [illegible] ...er Lösung von 0,1:250,0, also 0,12 mg aus 10 ccm [illegible] ...n löslicher Stärke bestimmter Herstellung inner- [illegible] ...bei gewöhnlicher Temperatur so viel Zucker bilden. [illegible] ...Fehling'scher Lösung reducirt werden. Brauchte er [illegible] ...Präparat unter denselben Bedingungen 0,24 mg, so hätte [illegible] ...Kraft F=50 etc.

[illegible] ...einer der Mett'schen Röhrchenmethode (s. b. Pepsin) [illegible] ...Methode bestimmt Pawlow (l. c. S. 34) die Diastase- [illegible] ...Stärkekleister in enge Glasröhrchen und misst nach [illegible] ...die Länge des gelösten Cylinders.

Bedingungen der Diastasewirkung. Mit Hilfe dieser Methoden [illegible] ...versucht, den Einfluss von verschiedenen Agentien [illegible] ...Wirkung zu bestimmen. Die Verschiedenheit der [illegible] ...und andere Gründe haben es indessen leider [illegible] ...dass über sehr viele Fragen gar keine Einigung erzielt [illegible] ...Untersucher hat in diesen Fällen nur dazu beige- [illegible] ...ungeheure Litteratur zu vermehren, ohne eine definitive [illegible] ...herbeizuführen, da immer wieder ein Anderer auftrat, [illegible] ...bestritt. So seien denn nur die wichtigsten Ar- [illegible]

[illegible] ...dass die Resultate an Malzdiastasen wieder nicht [illegible] ...diastasen gewonnenen übereinstimmen.

[illegible] ...gegen Temperaturveränderungen ist das gewöhn- [illegible] ...auffallend, dass bei höherer Temperatur aus- [illegible] ...niederer (50—60°) mehr Zucker entstehen. [illegible] ...Existenz zweier Enzyme ausgebeutet worden.

[illegible] ...Untersucher (Cohnheim[1]), Baranetzki[2]), Ri- [illegible] ...Diastase, speciell Speicheldiastase, gegen Salz- [illegible] ...Concentration umempfindlich sei, hat [illegible] ...nachgewiesen, dass sie schon durch 0,015 % [illegible] ...Dagegen wirken noch kleinere Mengen [illegible] ...(Chittenden und Griswold)[5]).

[illegible] ...wirkt Kohlensäure energisch fördernd [illegible] ...Citronensäure (Detmer)[7]). Salicyl-

[illegible] ...Arch. 28. 241 (1863).
[illegible] ...versch. Ort.
[illegible] ...et physiol. XIV. 285.
[illegible] ...physiol. III. 246, IV. 18.
[illegible] ...wold, Amer. Chem. J. III. 305 (1882).
[illegible] ...Landw. Jahrb. 1885. 795.
[illegible] ...ch. VII. 1 (1882).

säure ist gleichgiltig (Krauch)[1]) (vergl. indessen Kjeldahl[2]) u. b. Speicheldiastase). Flusssäure wirkt in grösserer Concentration erheblich schädigend (Effront)[3]). Organische Säuren (Milchsäure, Buttersäure, Essigsäure) wirken nach Kjeldahl[2]) in kleinen Quantitäten fördernd. Borsäure ist ohne Einfluss (Leffmann und Beam)[4]).

Die Salze der Alkalien und alkalischen Erden fand Lintner[5]) gleichgiltig im Gegensatz zu A. Mayer u. A., die einen Antagonismus zwischen der günstigen Wirkung des Chlornatriums und der schädigenden des Chlorkaliums construiren wollten. Eine Verlangsamung der diastatischen Spaltung des Glycogens durch kohlensaure Alkalien hat Gans[6]) beobachtet.

Auch über die Salze der Schwermetalle liegen divergente Aeusserungen vor.

Lintner (l. c.) und Kjeldahl (l. c.) fanden sie intensiv schädigend, besonders Blei-, Zink- und Eisensalze, Effront[7]) zum Theil sehr nützlich, besonders Aluminiumacetat und Vanadinsalze. Borax, Alaun, Arsensalze wirken nach Kjeldahl (l. c.) schädlich, Gyps sehr wenig. Sehr günstig wirken nach Effront auch Phosphate, Eiweissstoffe, Picrinsäure und Asparagin, doch in gänzlich verschiedenen Mengen. Aehnlich fand er das Infus von rohen Samen günstig wirksam im Sinne seiner Ansicht, dass die Intensität der Diastasewirkung von Beimengungen erheblich beeinflusst wird, und nur darauf die verschieden starke Wirksamkeit der Diastasen verschiedenen Ursprungs zurückzuführen ist.

Detmer[8]) hat die Wirkung des Atropins als schädlich befunden; Strychnin ist nach Kjeldahl (l. c.) gleichgiltig. Andere Gifte haben in umfangreichen Untersuchungen Chittenden[9]) und seine Schüler geprüft und sie sehr verschieden wirksam befunden, worauf ich hier nicht näher eingehen kann.

Eine theoretisch sehr wichtige Bemerkung, die in Uebereinstimmung mit der Ansicht von Tamman über das Einstellen eines End-

---

1) Krauch, Landw. Versuchstat. 23. 77.
2) Kjeldahl, Z. ges. Brauw. 1880. 186.
3) Effront, Bull. soc. chim. (3). IV. 627 (1890).
4) Leffmann und Beam, Analyst. XIII. 103 (1888).
5) Lintner, J. pract. Ch. N. F. 36. 841 (1887).
6) Gans, Verh. Congr. f. inn. Med. 1896. 449.
7) Effront, C. R. 115. 1324 (1892); 120. 1281 (1895). s. a. Effront-Bücheler, Die Diastasen. 1900. S. 126.
8) Detmer, Landw. Jahrb. X. 757 (1881).
9) Chittenden, Maly's Jb. XV. 256ff. (1885).

punktes mit Inactivirung des Fermentes beim Emulsin etwas Aehnliches für die Diastase feststellt, haben Moritz und Glendinning[1]) gemacht. Sie fanden, dass Malzdiastase nicht die gesammte Stärke zerlegt, sondern schliesslich unwirksam wird. Setzt man aber zu diesem Gemisch frische Stärke, so geht die Fermentation mit ungeschwächter Intensität weiter, auch noch ein drittes Mal, wenn gewisse Bedingungen eingehalten werden. Diese sind abhängig von der Quantität des Malzextractes und vor Allem von der Temperatur. Bei höherer Temperatur (60—65°) ist die spaltende Kraft der „Residualdiastase" schon beträchtlich geringer als beim ersten Mal, was durch eine allmähliche Zerstörung des Fermentes bedingt ist. Diese Beobachtung ist deshalb besonders interessant, weil hier durch erneuten Zusatz desselben Substrates dasselbe erreicht wird, was Tamman mit einem ähnlichen Substrat, nämlich Salicin bei einem Emulsin-Amygdalingemisch erreicht hat (vgl. S. 54).

Von besonderem theoretischen Interesse ist die damit zusammenhängende Frage, ob die Wirksamkeit der Diastase durch die aufgehäuften Spaltproducte gehindert wird[2]).

Allerdings wird die Diastasewirkung mit fortschreitender Hydratisirung immer schwächer, doch soll nach der Ansicht mehrerer Autoren daran nicht die Aufhäufung der Spaltproducte die Schuld tragen.

Wortmann[3]) betont, dass eigentlich ein Versiegen der diastatischen Wirkung bei genügender Zuckerbildung für die Pflanze physiologisch nöthig sei, und dass man darum a priori das Gegentheil von dem vermuthen sollte, was sich experimentell ergeben hat. Sonst muss man auf die Ansicht von Baranetzki[4]) zurückgreifen, der eine intermittirende Production von Diastase annimmt. Diese Anschauung stimmt auch zu der überall wieder zu constatirenden Thatsache, dass die lebende Zelle nur dann Enzyme producirt, wenn sie ihrer Wirksamkeit benöthigt ist, worauf wir im allgemeinen Theil bereits hingewiesen haben. Doch wird diese Nichtbeeinflussung durch die Spaltproducte wieder von Müller-Thurgau geleugnet.

Müller-Thurgau[5]) hat die Einwirkung der Temperatur auf die Diastasewirkung genau untersucht. Er findet, dass bei niederen Temperaturen von 0°—20° die zersetzten Mengen gleichmässig mit der Zeit fortschreiten, dass dagegen bei höherer Temperatur die Wirksamkeit allmählich abnimmt, zunächst wegen der zunehmenden Ver-

1) Moritz und Glendinning, Journ. Chem. Soc. 61. 689 (1892).
2) vgl. Brown und Heron, Liebig's Ann. d. Chem. 199. 247 (1880).
3) Wortmann, Z. phys. Ch. VI. 324.
4) Baranetzki, l. c. S. 62.
5) Müller-Thurgau, Landw. Jahrbüch. 1885. 795.

dünnung des Substrats, dann aber auch wegen des störenden Einflusses der aufgehäuften Spaltproducte. Dadurch wird die Grösse der Zunahme bei höherer Temperatur etwas beeinträchtigt. Untersuchte er die Resultate kurzdauernder Einwirkung, so fand er für die Zunahme der Wirkung von 0° zu 10°, 20°, 30°, 40° folgende Reihe:

7 : 20 : 38 : 60 : 98.

Kohlensäure beschleunigt die diastatische Wirkung energisch[1]), ebenso Zunahme des Druckes, noch wirksamer aber, als der Summe dieser Factoren entspricht, erwiess sich Kohlensäure unter höherem Druck, die auch eine lebhafte Einwirkung der Diastase auf nicht verkleisterte Stärke erzeugte.

Ueber die Einwirkung von Sonnenlicht, speciell auf Diastase, hat Green[2]) eine ausführliche Untersuchung angestellt, die für die Frage nach der Verwerthung des pflanzlichen Reservematerials bei verschiedener Bestrahlung grosses Interresse verdient.

Er fand, dass die ultravioletten Strahlen stark schädigend auf die Diastase, speciell des Malzes einwirken; schädigend wirken ferner die grünen Strahlen. Fördernd dagegen wirken verschiedene Stellen des Spectrums, besonders im Roth, Orange und Blau, doch auch nur vorübergehend; später trat stets Zerstörung ein; die ursprüngliche Zunahme wird dadurch bedingt, dass Zymogen in actives Ferment übergeht. Die verschiedenen Diastasen verhalten sich verschieden, die des Malzextracts wird zu 68 %, Speicheldiastase zu 45 %, die des Blätterextractes nur zu 8 % zerstört. Green nimmt hier eine schützende Wirkung des Chlorophylls an.

Geschwindigkeit der Diastasewirkung. Die Diastasewirkung folgt ebenfalls der Schütz'schen Regel: Die Spaltungsgeschwindigkeit ist proportional der Quadratwurzel aus der Fermentmenge.

Nach Henri[3]) folgt die Diastasewirkung der logarithmischen Curve der Säurespaltung, wenn man die gebildete Maltose als Maassstab annimmt; die eigentliche Stärkespaltung kann man nicht berechnen, da die Zahl der Zwischenproducte nicht bekannt ist und damit die Grundlagen für eine theoretisch-chemische Betrachtung fehlen.

Die Concentration der Stärke ist von Einfluss, sobald sie unter einen gewissen Werth herunter geht; und zwar ist dieser für Malzdiastase bei 0,75 % lösl. Stärke, für Pankreasdiastase schon bei 2 %.

---

1) Uebereinstimmend mit Detmer, Z. phys. Ch. VII. 1 (1882).

2) Green, Philosoph. Transact. 188. 167 (1897).

3) Henri, Lois générales des diastases. Paris 1903. S. 113.

Henri zieht aus seinen Beobachtungen den Schluss, dass für die Diastase dasselbe Gesetz gilt, wie für die Invertase, das wir dort ausführlich entwickeln werden, dass nämlich das Enzym sowohl mit der Stärke, als mit einzelnen Spaltproducten Verbindungen eingeht, die wieder zerfallen. Nur liegen hier die Verhältnisse insofern einfacher, als die Curve der Maltosebildung der logarithmischen gleich ist, also m und n einander gleich werden. Es ist also für die Diastase $K_3 = \frac{1}{t}(1 + ma) \ln \frac{a}{a-x}$, und die Geschwindigkeit $\frac{dx}{dt} = \frac{k_3(a-x)}{1+ma}$. Doch gilt für diese Aufstellung der eben erwähnte Vorbehalt, dass man die eigentliche Diastasewirkung, die Stärkespaltung, noch nicht genau messen kann, sondern nur die nach dem einfachen logarithmischen Gesetz verlaufende Maltosebildung.

Einwirkung auf verschiedene Stärkearten. Während die Diastase verkleisterte Stärke im Allgemeinen sehr leicht und schnell verflüssigt und spaltet, verhalten sich die rohen Stärkekörner der diastatischen Einwirkung gegenüber sehr verschieden. In der Kälte löst sich Gersten- und Weizenstärke ziemlich schnell, während sich Kartoffelstärke fast gar nicht löst. Auch bei höherer Temperatur verhalten sich die einzelnen Stärkearten durchaus verschieden. Bei 50° löst sich nach Lintner (l. c.) 12 % Gerstenstärke, 2 % Maisstärke, aber 29 % Grünmalzstärke, bei 55° Kartoffel 5 %, Gerste 53 %, Grünmalz 58 %, bei 60° Kartoffel 52 %, Gerste 92 %, Mais 18 %. Vielfach führt man die Verschiedenheiten auf die physikalische Structur der Stärkekörner, die zum Theil auch im Kleister erhalten bleiben soll, zurück und will daraus auch die Verschiedenheiten der Dextrine als nur physikalische ableiten; die scheinbaren Zwischenstufen sollen dadurch vorgetäuscht werden, dass sich der Process der Sacharificirung an verschiedenen Partien des Stärkekleisters in verschiedenen Stadien befindet. Diese Ansicht, die u. A. von Pottevin[1] vertreten wird, würde all' die mühsamen Arbeiten über die Dextrine werthlos machen, ist aber kaum genügend begründet.

Der Abbau der Stärke durch Diastase. Trotzdem eine grosse Anzahl von Forschern an diesem schwierigen Problem ihre Kräfte erprobt haben, ist über diese wichtige Frage noch keine Einigung erzielt. Es liegt dies vor Allem an der grossen Schwierigkeit, die bei dem diastatischen Process entstehenden Producte in reiner Form zu gewinnen und von den anderen zu trennen.

1) Pottevin, Thèse Paris 1899. Mon. scientifique. 1900. S. 116.

Sichergestellt ist nur, dass bei der diastatischen Spaltung einerseits reducirende Zucker, und zwar Hexobiosen entstehen; andererseits amorphe, nicht krystallisirende, complexe Polysacharide, die wenig oder gar nicht reducieren und bei der Säurespaltung Glucose liefern, die Dextrine.

Sobald wir aber über diese Grundthatsachen hinausgehen, treffen wir fortwährend auf Widersprüche. Da die auf diesem Gebiete thätigen Untersucher in ihren Angaben selbst in den wesentlichsten Punkten von einander abweichen, so ist es nach den heute vorliegenden Befunden noch nicht möglich, die Frage in klarer Darlegung aufzurollen.

Betrachten wir zunächst die Natur der entstehenden Hexobiosen, so ist nur über allen Zweifel erhaben, dass jedenfalls Maltose entsteht. Daneben soll nach der Ansicht verschiedener Autoren noch ein der Maltose isomeres Disacharid, die Isomaltose entstehen, deren Existenz von Anderen durchaus bestritten wird. Wir werden unten darauf zurückkommen.

Noch viel schwieriger aber ist es, sich auf dem Gebiete der nichtkrystallisirbaren Antheile der diastatischen Producte zu orientiren, die man mit dem Sammelnamen Dextrine bezeichnet Während Einige alle gefundenen Differenzen zwischen den einzelnen Dextrinen als unwesentlich bei Seite schieben und nur ein Dextrin anerkennen, nehmen Andere eine mehr oder weniger grosse Anzahl von Dextrinen an, und fast Jeder vertritt eine eigene, von den übrigen Autoren nicht getheilte Ansicht. So ist es denn, besonders da noch eine bedeutende Verwirrung in der Nomenclatur als erschwerendes Moment hinzukommt, eine fast unlösbare Aufgabe, den heutigen Stand der Frage zu präcisiren.

Der Name Dextrin rührt von Biot her, der aber darunter einen sich noch mit Jod färbenden Stoff verstand, also ungefähr das, was man später als „lösliche Stärke" bezeichnet hat. Erst Béchamps nannte die mit Jod nicht mehr färbbaren Substanzen Dextrin.

Brücke[1]) unterschied zuerst zwei Dextrine. Er fand, dass das eine mit Jod noch eine Rothfärbung ergiebt, und nannte es Erythrodextrin, das andere mit Jod nicht mehr reagirende Achroodextrin. Das letztere, das wohl auch mit dem Dextrinogen Nasse's[2]) identisch ist, ist in seiner Existenz sichergestellt, während die chemische Individualität des Erythrodextrins angezweifelt wird.

---

1) Brücke, Sitz.-B. d. Wiener Acad. Math.-Phys. Kl. 1872. III. 126 (dort d. ältere Litt.).

2) Nasse u. A., Pflüg. Arch. XIV. 477 (1877).

...nommenen Dextrinen kam dann noch als ... mit Jod sich noch blau färbende, aber in ... „lösliche Stärke“. Bondonneau[1] ... den Dextrinen, sondern noch zur Stärke ... drei Dextrine. Dagegen erklärten Mus- ... lösliche Stärke für ein zu den Dextrinen ...

... drei Achroodextrine (α, β, γ), die sich ... unterscheiden sollen. Später nahmen ... seine Mitarbeiter eine sehr grosse Anzahl von ... an, worauf wir bei der Besprechung der ... später eingehen werden.

... Brown und Millar[3]) in ihrer letzten Arbeit ... charakterisirtes Achroodextrin als ein Endproduct ... an. Brown hatte schon früher[4]) darauf ... diastatische Process unter 60° stets bei einem ... wenigstens von da an nur sehr langsam fort- ... Kraft = 80 Proc. auf Glucose berechnet ... = 150° ist. In dieser Arbeit versuchen ... den Nachweis zu erbringen, dass hierbei ... einheitlichen Achroodextrin entsteht, ... haben.

... nur sehr langsam weiter angegriffen, zeigt ... 197—198° und hat eine nicht auf Bei- ... Reductionskraft von 5,5 Proc. ... Oxydation in eine Säure, dextrinic ... einer freien reducirenden Aldehydgruppe ... Sie geben ihm eine Constitution, nach ... Mol. Wasser aus 40 Mol. Glucose entsteht. ... bestätigen, so wäre damit die Frage ... Weniger gründlich erforscht ist die ... Erythrodextrins und der damit wohl ... Wijsman's, auf die wir noch zurück-

... Amylodextrin. Es wurde zuerst von ... der Stärke mit sehr schwachen Säuren in

... 1210. Bull. Soc. Chim. 23. 98 (1875).
... Z. phys. Ch. II. 188 (1878).
... Journ. Chem. Soc. 75. 315 (1899).
... Journ. Chem. Soc. 35. 596 (1879).
... Kenntniss der Stärkegruppe. Leipzig 1874, cit. n.

der Kälte erhalten. Späterhin wurde es häufig mit der „löslichen Stärke" in engen Connex gebracht.

Brown und Morris[1]) nehmen im Gegensatz dazu für das Amylodextrin eine eigene chemische Individualität in Anspruch.

Sie stellten es als einen einheitlichen Stoff dar, dem sie die Formel $(C_{12}H_{10}O_{10})_6C_{12}H_{22}O_{11}$ zuschreiben, die sie durch eine Moleculargewichtsbestimmung bestätigen konnten. Es enthält also im Sinne der Brown'schen Hypothese (s. u.) sechs „Amylin-" und eine „Amylongruppe". Es ist unvergährbar und bildet dem Inulin sehr ähnliche Sphärokrystalle. Sie erhielten es durch sehr langsame Hydrolyse unverkleisterter Stärke mit 0,2 procentiger Schwefelsäure; es soll aber auch bei der diastatischen Spaltung sich bilden. Später haben dann Brown und Millar[2]) es durch Ueberführung in das Nitrat gereinigt und identificirt. Es ist dem Maltodextrin (s. u.) sehr nahestehend.

Ein in verdünntem Alkohol lösliches Dextrin, das Maltodextrin, wurde von mehreren Autoren beschrieben (Herzfeld[3]), Brown und Morris[4])).

Doch zeigten diese einzelnen Maltodextrine wenig Uebereinstimmung. Besonders die Frage nach der Gährfähigkeit ist von Herzfeld positiv, von Brown und Morris ablehnend beantwortet worden. Später ist dann von Schifferer[5]) die Existenz eines derartigen Maltodextrins wieder direct geleugnet worden, der es als eine unreine Isomaltose auffasst. Jedoch halten Brown[6]) und seine Mitarbeiter an seiner chemischen Individualität fest und behaupten wieder, dass die Isomaltose nur ein Gemenge von Maltodextrin und Maltose sei. Sie geben dem Maltodextrin die Formel:

$$O\langle\begin{matrix} C_{12}H_{21}O_{10} \\ C_{12}H_{20}O_9 \end{matrix} \qquad O\langle\begin{matrix} C_{12}H_{20}O_9 \\ C_{12}H_{21}O_{10} \end{matrix}$$

mit einer freien CHO-Gruppe, da es bei der Oxydation eine Säure giebt.

1) Brown u. Morris, J. Chem. Soc. 55. 449 (1889) u. Z. f. d. ges. Brauw. 1889. 437.

2) Brown u. Millar, J. Chem. Soc. 75. 311 (1899).

3) Herzfeld, Ueber Maltodextrin. Inaug.-Diss. Halle 1879.

4) Brown und Morris, Journ. Chem. Soc. 47. 527 (1885); dort Litt. d. ält. Periode.

5) Schifferer, Die nichtkrystallisirb. Prod. d. Einw. von Diastase auf Stärke. Diss. Basel 1892.

6) Brown und Millar, Journ. Chem. Soc. 75. 286. 315 (1899).

Die Frage ist noch weit davon entfernt zu irgend einer Klärung gelangt zu sein[1]).

Beyerinck[2]) vermehrt die Nomenclatur mit einem neuen Dextrin, Leukodextrin, das sich etwas resistenter gegen Diastase verhält und schon mit ziemlich schwachem Alkohol fällbar ist. Er giebt selbst an, dass es kein chemisches Individuum ist, und will mit dem Sammelnamen nur genetische Beziehungen zur Stärkecellulose Nägeli's andeuten.

Wir haben also folgende Dextrine zu verzeichnen, wenn wir die „lösliche Stärke" nicht mitrechnen:

1) Erythrodextrin (incl. der Erythrogranulose Wijsman's) wird durch Diastase weiter verändert, durch Alkohol schon bei geringerer Concentration gefällt; färbt sich mit Jod röthlich-violett.

2) Achroodextrine werden durch Diastase nicht weiter verändert, wahrscheinlich aber durch Maltase; sind durch Alkohol fällbar, färben sich nicht mit Jod, haben schwache Reductionskraft.

3) Amylodextrin von Brown und Morris, durch Diastase weiter gespalten, reducirt, ist erst durch stärkeren Alkohol fällbar. Giebt mit Jod Purpurfärbung, dreht 4 mal stärker als Glucose, kann aus der wässrigen Lösung durch Ausfrieren erhalten werden.

4) Maltodextrin von Brown und Morris, löslich in Alkohol, durch Diastase weiter gespalten, gährt nicht.

Charakteristisch für alle Dextrine ist die mangelnde Krystallisationsfähigkeit, Leichtlöslichkeit in Wasser und Rechtsdrehung der Polarisationsebene. Durch Säuren gehen sie alle in Glucose über.

Ganz im Gegensatz zu diesen Ansichten stehen die Befunde von Pottevin[3]), der die beobachteten Verschiedenheiten der einzelnen Dextrine auf wechselnde Beimengungen von Maltose, sowie auf die Inhomogenität der ursprünglichen Stärkekörnchen zurückführen will. Insbesondere leugnet er die Existenz eines Maltodextrins als chemischen Körpers, da er es durch fractionirte Alkoholfällung in anderes Dextrin und Maltose zerlegt haben will. Er erhielt durch fractionirte Alkoholfällung beliebig viele Dextrine, die in allen Abstufungen von der löslichen Stärke zum Maltodextrin führten und bei der weiteren Spaltung wechselnde Mengen Maltose lieferten. Die Jodfärbung soll sehr von der Grösse der ursprünglichen Körnchen abhängen.

1) Es würde hier zu weit führen, die ganze noch sehr dunkle Frage der Dextrine ausführlicher aufzurollen. Man findet nähere Détails in den citirten Arbeiten, sowie eine ganz gute Uebersicht bei Plimmer, The Chemical Products resulting by Fermentations. London 1903. Cap. I.

2) Beyerinck, C. f. Bact. (II.) 1. 221 (1895).

3) Pottevin, Thèse. Paris 1899; c. n. Moniteur scientif. 1900. S. 116; s. a. C. R. 126. 1219 (1898).

Das Glycogen scheint sich etwas abweichend zu verhalten. Während es bei der Säurespaltung Producte liefert, die der löslichen Stärke und dem Erythrodextrin entsprechen, findet sich unter den Producten der Diastasespaltung nur ein dem Achroodextrin ähnliches Product, das durch Diastase nicht weiter abgebaut wird, das Dystropodextrin, aber kein dem Erythrodextrin entsprechender Körper. Nur die Leberdiastase bildet auch etwas Erythrodextrin (Tebb[1])).

Nach Osborne und Zobel[2]) bildet sich aus Glycogen durch Malz- und Pankreasdiastase Maltose, während Speicheldiastase und Takadiastase direct Glucose aus Glycogen erzeugen.

Maltose. Der reducirende Zucker, der bei der Diastasewirkung entsteht, wurde zunächst für Glucose[3]) gehalten; Dubrunfaut[4]) fand zuerst, dass der dabei entstehende Zucker von der Glucose verschieden ist und nannte ihn Maltose. Diese wichtige Beobachtung wurde völlig vergessen und erst von O'Sullivan[5]) wieder neu aufgefrischt. Durch die Arbeiten von Maercker[6]), E. Schulze[7]) u. A. (s. a. b. Speicheldiastase) wurde dann mit Sicherheit constatirt, dass hier ein von der Glucose verschiedener Zucker gebildet würde, den man dann allgemein als Maltose bezeichnet hat.

Die Maltose ist nach der Nomenclatur von E. Fischer eine Glucobiose von der Formel $C_{12} H_{22} O_{11}$, die Fehling'sche Lösung reducirt und eine viel grössere specifische Drehung als Glucose ($[\alpha]_D = + 137^0$) zeigt.

Sie reducirt nicht neutrales Kupferacetat (Barfoed's Reagens[8])).

Gegen Diastase ist sie beständig, wird dagegen durch ein ihr angepasstes Enzym, die Maltase (s. d.), in zwei Molecüle d-Glucose gespalten.

Isomaltose. Neben der Maltose soll bei der Diastasewirkung noch eine ihr isomere Glucobiose entstehen, die Isomaltose, die andere Eigenschaften aufweist und schwieriger mit Hefe gährt.

---

1) Tebb, Journ. of physiol. XXII. 427 (1898).
2) Osborne u. Zobel, Journ. of phys. 29. 1 (1903).
3) Zuerst gefunden von Guerin-Varry, Ann. Chim. Phys. (2.) 36. 225.
4) Dubrunfaut, Ann. d. chim. et phys. [3.] 21. 178 (1847).
5) O'Sullivan, Journ. Chem. Soc. 1876. II. 125.
6) Maercker, Thiel's Landwirtsch. Jb. 1877. Suppl.-H. S. 286.
7) E. Schulze, Chem. Ber. VII. 1047.
8) Musculus und v. Mering, Z. phys. Ch. II. 403 (1878).

Sie ist zuerst von E. Fischer[1]) synthetisch aus Glucose dargestellt worden. Dann fand sie Lintner[2]) als Product des diastatischen Abbaus der Stärke und hat sie genauer untersucht.

Trotzdem Brown und Morris[3]) u. A.[4]) ihre selbständige Existenz leugnen und sie als unreine Maltose bezeichnen, halten die Autoritäten an ihrer Individualität fest[5]). Sie ist aber in reinem Zustande noch nicht bekannt.

Glucose soll sich nach Baker[6]) unter der Einwirkung von langer Diastasebehandlung aus Dextrinen bilden, auch ohne vorherige Bildung von Maltose.

Theorien des Abbaus. Ueber den chemischen Vorgang des Abbaus der Stärke ist viel discutirt worden, absolute Beweisskraft kann keine der Theorien haben, solange die Constitution und die Moleculargrösse der Stärke und der Dextrine unbekannt sind.

Zuerst glaubte man an eine successive Umwandlung der Stärke in Dextrin und des Dextrins in Zucker. Die Spaltungstheorie in Dextrin und Maltose verfocht hartnäckig gegen zahlreiche Gegner Musculus in den oben citirten Arbeiten, bis es ihm schliesslich gelang, mit Gruber zusammen den exacten Nachweis zu führen, dass die Stärke in Dextrin und Maltose gespalten wird.

Brown und Heron[7]) nahmen in ihrer umfassenden Arbeit für die „lösliche Stärke“ die Formel $(C_{12}H_{20}O_{10})^{10}$ an. Durch Wasseraufnahme geht diese in das Erythrodextrin $(C_{12}H_{20}O_{10})^{9}$ und ein Molecül $C_{12}H_{22}O_{11}$ (Maltose) über. So geht eine stufenweise Abspaltung von Maltose vor sich, bis endlich bei der achten Hydrolyse die Reaction zum Stillstand kommt. Dann sind 81 % Maltose und 19 % des letzten Achroodextrins vorhanden. Ihnen schloss sich Bourquelot[8]) in seiner Anschauung ziemlich genau an.

Brown und Morris[9]) vertreten dann später eine complicirtere Theorie. Nach ihrer Auffassung gruppiren sich in der löslichen Stärke

1) E. Fischer, Chem. Ber. 23. 3687 (1890). s. a. Scheibler und Mittermeier, Chem. Ber. 24. 303 (1891).

2) Lintner, Z. f. das ges. Brauwesen. 1891. 281; 1892. 6. 123. Lintner und Düll, Z. f. angew. Ch. 1892. 263. Lintner, Z. f. d. ges. Brauw. 1894. 414; s. a. Ling und Baker, Journ. Chem. Soc. 67. 702. 739.

3) Brown und Morris, Journ. Chem. Soc. 67. 709 (1895).

4) s. b. Plimmer, l. c.

5) s. u. A. E. Fischer, Z. phys. Ch. 26. S. 71 (1898).

6) Baker, Proc. Chem. Soc. XVIII. 134.

7) Brown und Heron, Liebig's Ann. 199. 165 (1880).

8) Bourquelot, Compt. rend. 104. 576.

9) Brown und Morris, Journ. Chem. Soc. 55. 462 (1889); 69. 709 (1895).

je vier Dextrinkerne um einen fünften, und bei der Spaltung zerfällt der ganze Complex. Diese 5 Dextrinkerne haben jeder die Constitution $(C_{12} H_{20} O_{10})_{20}$, und dieses Dextrin, das sich mit Jod nicht färbt, also dem Achroodextrin entspricht, ist das einzige wirkliche Dextrin. Ferner nehmen sie noch zahlreiche Zwischenstufen, die Amyloïne an, die sich aus einer Combination von Amylinkernen $C_{12} H_{20} O_{10}$ und Amylonkernen $C_{12} H_{22} O_{11}$ zusammensetzen. So soll das Amylodextrin z. B. aus 6 Amylinen und 1 Amylon, das Maltodextrin aus 2 Amylinen und 1 Amylon bestehen. Ausserdem soll es noch viele andere Amyloïne, auch mit mehreren Amylongruppen geben, die u. a. bei der Nachgährung der Biere eine Rolle spielen. Lintner und Düll[1]) haben diese Theorie einer energischen Kritik unterzogen, deren Hauptresultat das ist, dass die „Amyloïne“ wechselnde Gemische von Dextrinen und Isomaltose sind (s. o.). Sie nehmen an, dass beim diastatischen Abbau drei Dextrine, die den alten Begriffen des Amylodextrins Erythrodextrins und Achroodextrins entsprechen, gebildet werden, und zwei Glucobiosen, Maltose und Isomaltose, welche letztere sie in Brown's Maltodextrin nachgewiesen haben wollen.

Die Zweienzym-Theorie. Eine wesentlich andere Anschauung über das Wesen der Einwirkung von Malzextract auf Stärke vertritt Wijsman[2]). Er nimmt nicht ein einheitliches Ferment Diastase an, sondern supponirt die Existenz zweier verschiedener Enzyme, die er mit den Namen Maltase und Dextrinase belegt. Die Zweitheilung der diastatischen Fermente ist nach seiner Angabe schon von Cuisinier präcise postulirt worden, der auch schon die angeführten Namen gewählt hat. Die Namen sind nun allerdings beide unhaltbar. Maltase ist mit Recht das maltosespaltende Enzym genannt worden und Dextrinase wäre nach den Principien der Fermentnomenclatur ein Ferment zu nennen, das Dextrine spaltet. Im Gegentheil nimmt aber Wijsman an, dass die Dextrinase secundär die aus der Stärke zuerst durch Einwirkung seiner „Maltase“ entstehende Erythrogranulose, die neben der Maltose entsteht, in Maltodextrin weiter überführt. Die Erythrogranulose ist also neben Maltose das primäre Product der Fermentwirkung.

Wijsman demonstrirt die Wirkung seiner beiden Fermente durch seine oben erwähnte Diffusionsmethode. Wenn er auf eine mit Stärke getränkte Gelatineplatte einige Tropfen Diastaselösung bringt, so breitet sich diese concentrisch aus. Färbt er nun mit Jod, so entsteht in der

---

1) Lintner und Düll u. A., Chem. Ber. 26. 2533 (1893). Schifferer, Diss. Basel 1892.

2) Wijsman, Recueil d. trav. chim. des Pays-Bas. IX. 1.

Mitte, wo also beide Fermente gewirkt haben sollen, ein ungefärbter Fleck, der von einem violetten Hof umgeben ist; letzterer soll die ausschliessliche Wirkungszone der „Maltase“ (Bildung von Erythrogranulose) demonstriren, während die farblose Centralzone die Thätigkeit der „Dextrinase“ demonstrirt. Wo die Fermente gar nicht gewirkt haben, herrscht natürlich die blaue Farbe der Jodstärke vor.

Er giebt ferner an, dass die „Maltase“ schon bei 55° unwirksam wird, während die „Dextrinase“ Temperaturen bis zu 75° erträgt. Dies widerspricht vielfachen Angaben, dass durch Erwärmen diastatisch wirkender Lösungen gerade die Fähigkeit der tiefergehenden Spaltungen intensiver geschwächt wird, als die Bildung der ersten Abbauproducte.

Die Dextrinase soll hauptsächlich in der Rindenzone der gekeimten Malzkörner sich finden; aus geperltem Malz will er demgemäss reine „Maltase“ ohne Dextrinase isolirt haben, die ihm dann aus Stärke neben Maltose reine Erythrogranulose geliefert hat. Diese ist in Wasser leicht löslich, aber durchaus verschieden vom Amylodextrin.

Beyerinck[1]) hat diese Ansicht im Wesentlichen acceptirt, nimmt aber an, dass die „Dextrinase“ nicht präformirt im Malzextract vorkommt, sondern aus einem wieder anderen Enzym der „Granulase“, die aus der Stärke Maltose und Achroodextrin (Maltodextrin) erzeugt, durch Erhitzen gebildet wird; dadurch soll der „Granulase“ zwar die dextrinbildende Function erhalten bleiben, die maltosebildende dagegen verloren gehen. Andere Granulasen sind nicht so empfindlich, woraus sich eine Verschiedenheit der Granulasen verschiedener Herkunft ableiten lässt.

Er unterscheidet dann „Alkaligranulasen“, zu denen die Speichel- und Pankreasdiastase gehört, und Säuregranulasen. Zu diesen gehören die Granulasen des Weizens, Roggens und der Gerste, davon abweichend die Buchweizengranulase als Prototyp der Dicotyledonengranulasen, die Maisgranulase und die des Granulobacter.

Seine „Maltase“ findet sich weit verbreitet im Pflanzenreich. Sie spaltet Stärke in Erythrodextrin und Maltose. Es wäre entschieden praktischer, diese beiden Enzyme als Erythroamylase (Granulase) und Achrooamylase (Maltase) zu unterscheiden, wenn sie überhaupt existiren.

Pottevin[2]) glaubt ebenfalls, dass der Abbau in zwei successiven Phasen vor sich geht. Auch er nimmt zwei verschiedene Enzyme an, eine „Dextrinase“, die die Stärke in Dextrin überführt, und die

1) Beyerinck, C. f. Bact. (2.) I. 229 (1895).
2) Pottevin, Thèse. Paris 1899. Ref. in Moniteur scientif. 1900, 116.

eigentliche „Amylase", die die weitere Verarbeitung zu Maltose vollzieht[1]). Zur Bekräftigung zieht er den Befund heran, dass man durch kurzes Erhitzen auf 80° (5 Min.) der Diastase die zuckerbildende Function nehmen kann, ohne die stärkelösende zu zerstören. Es ist hier wohl eher im Sinne von Tamman eine durch Schwächung des Fermentes bedingte Herbeiführung des „falschen" Endzustandes anzunehmen. Die Frage nach der Existenz und der Natur zweier Enzyme in diastatisch wirkenden Flüssigkeiten bedarf der weiteren Aufklärung.

Vorkommen diastatischer Fermente im Pflanzenreich. Die diastatischen Fermente sind im Pflanzenreich weit verbreitet.

Ausser in der keimenden Gerste, wo sie ihre praktisch wichtigste Rolle spielen, fand man sie auch in anderen keimenden Samen, so im Hafer, Weizen, Mais, Reis, in Kartoffelknollen (Payen und Persoz[2])), Wicken etc. (v. Gorup-Besanez[3])); auch in ruhenden Samen, jedoch viel spärlicher (Kjeldahl[4])), in Kieferpollen (Erlenmeyer[5])), den Knospen von Ailanthus glandulosa (Payen und Persoz[2])) etc.

Im Milchsaft von Ficus carica fand sie Hansen[6]). Namentlich Baranetzki[7]) suchte sie mit Erfolg in sehr vielen pflanzlichen Organen und Säften; er fand sie weit verbreitet in Samen, Knollen, Blättern, Wurzeln etc.; in stärkehaltigen Säften allgemein (Mulder[8])).

In Blättern fand sie Brasse[9]), in der Zuckerrübe (Beta vulgaris) Gonnermann[10]).

So neigte man denn bald zu der Annahme, dass die Diastase in den Pflanzen überall da gegenwärtig sei, wo Stärke umgesetzt wird, und schob ihr die wichtige Aufgabe zu, die gesammte stärkelösende

---

1) Die Namen sind ganz unpraktisch. Ueber Dextrinase, die übrigens wieder etwas Anderes ist als die Wijsman'sche, deren Existenz allerdings von Beyerinck geleugnet wird, s. o. Wie aber ein dextrinspaltendes, maltosebildendes Enzym zu dem Namen Amylase kommt, ist absolut nicht zu verstehen, da es mit Stärke überhaupt nichts zu thun hat. Hier wäre der Name Dextrinase passend und als Amylase das einzige stärkespaltende Ferment zu bezeichnen, wenn Pottevin's Befunde richtig sind.

2) Payen und Persoz, Ann. d. chim. et phys. **53**. 73; **56**. 337; **60**. 441.

3) v. Gorup-Besanez, Chem. Ber. VII. 1478; VIII. 1510.

4) Kjeldahl, Resum. d. Labor. Carlsberg. I. 1879; cit. n. Brown und Morris, Journ. Chem. Soc. **57**. 505.

5) Erlenmeyer, Münch. akad. Sitzb. 1874. II. 204.

6) Hansen, Arb. bot. Inst. Würzb. III. 271.

7) Baranetzki, Die stärkeumbild. Fermente. Leipzig 1878.

8) Mulder, Chemie des Bieres, übers. v. Grimm. Leipzig 1858. S. 226.

9) Brasse, C. R. **99**. 878.

10) Gonnermann, Chemiker-Zeitg. **1895**. 1806.

...anzen zu erfüllen, eine Ansicht, der besonders von ... gegeben wurde.

... Diastase wahrscheinlich doch nicht überall in ... Pflanzentheilen zu finden; Krauch[2]) z. B. vermisste ... in den Vegetationsorganen der Birke ganz und ... Rosskastanie nur im Holz. Besonders energisch hat ... Gedanken bekämpft, dass die gesammte Stärkeum... Pflanze auf die Thätigkeit von ungeformten Fermenten ... Er schwächte die Bedeutung ihrer Anwesenheit ... ihr Vorhandensein erstens in Organen nachwies, ... fanden, wo sie also seiner Meinung nach functionslos ... aber führte er dagegen ins Feld, dass er sie ... lebhafte Stärkeumsetzungen stattfinden, vermisste, ... grünen Blättern, in denen er im Gegensatz zu ... wenig oder gar keine Diastase finden konnte. ... Beweisführung wurde indessen von Brown und ... in einer sehr gründlichen Arbeit das Vorhan... Fermente in grünen Blättern nachwiesen.

... der Nachweis, dass es wirklich nur das Enzym ... die Stärkelösung bewirkt, nicht geführt. Experi... man also Wortmann's Ansicht, dass ein sehr ... Stärkeauflösung direct durch die lebende Pflanzen... nicht. Wortmann nimmt an, dass im Allge... diese Function erfüllt, und dass die Enzyme nur ... die der Zelle nicht direct zugänglichen Stärke... auch dieses Enzym noch für nicht völlig leb... es noch mit einem „Rest“ von vitaler, dem ... stammender Energie begabt ist. Wir haben im ... Anschauung bereits gedacht, und gezeigt, dass sie ... als ein heuristisches Princip zur Erklärung der ...

... Morris[5]) hätte man drei verschiedene Diastasen ..., die in ihrer Wirkung und ihrer physio... nämlich die Secretionsdiastase, die ... und die Cytase. Grüss[6]) bestätigt diese ... aber in anderen Punkten ab. Eine dieser ... zellwandlösend wirken (s. b. Cellulase). Die

... Jahrbücher. X. 757 (1881).
... Versuchstat. 23. 77.
... Ztg. 48. No. 37 ff.
... Journ. Chem. Soc. 63. 604. (1893); dort die ge... in Blättern.
... Journ. Chem. Soc. 57. 507 (1890).
... Bot. 26. 379.

Secretionsdiastase ist diejenige der keimenden Samen, während die Translocationsdiastase die der ruhenden Samen und der anderen Organe der Pflanze ist. Sie unterscheiden sich dadurch, dass die Secretionsdiastase bei 55°, die Translocationsdiastase bei 45° ihr Optimum hat. Die Secretionsdiastase löst Stärkekörner, indem sie sie corrodirt und zerbröckelt, verflüssigt Kleister rasch; die Translocationsdiastase wirkt langsam auf Kleister, schnell auf lösliche Stärke und löst Stärkekörner ohne Corrosion. Genaueres über die pflanzlichen Diastasen findet man bei Green-Windisch (l. c.).

Secretion der Diastase in den Pflanzen. Für die Vorstellung, dass die Diastase nicht diffus in den pflanzlichen Organen sich bildet, sondern ein wirkliches Secretionsproduct ist, hat Haberlandt[1]) den Beweis geliefert. In Bestätigung der Angaben von Tangl[2]) u. A. weist er nach, dass die Kleberschicht des Endosperms der Gramineen stets Diastase abscheidet. Aimé Girard[3]) hatte ebenfalls nachgewiesen, dass nur in den äusseren Schichten der Getreidekörner Diastase producirt wird, nicht aber in den Kernschichten, wo die Stärke abgelagert ist. Ferment und Substrat sind also getrennt, eine Thatsache, die wir auch beim Emulsin etc. wiederfinden werden. Haberlandt fand sie in den Zellen des Endosperms und hält es für sicher, dass diese Zellen nicht zu dem Speichersystem der Pflanze gehören, sondern ein echtes Drüsengewebe darstellen, dessen specifische Function es ist, Diastase zu produciren und zu secerniren, wie es die Speicheldrüsen der Thiere thun, und das in den Pepsindrüsen der insectivoren Pflanzen, den emulsinbildenden Zellgruppen der Blätter von Laurocerasus etc. seine Analoga in dem übrigen Pflanzenreich hat.

Brown und Morris[4]) konnten seine Schlüsse nicht völlig bestätigen; sie zeigten, dass beim Gerstenkeimling die Diastase von dem Absorptivepithel des Scutellums abgesondert würde, und dass ein Embryo, den man dieses Epithels beraubt hat, nicht mehr die Fähigkeit besitzt, nach seiner Herausnahme Stärke anzugreifen, wie dies der unverletzte Embryo thut. Die Kleberschicht soll hauptsächlich Cellulase bilden (s. d.), daneben Translocationsdiastase.

Ueber die mikroskopisch wahrnehmbaren Veränderungen, welche die Stärke innerhalb der Pflanze unter dem Einfluss der Diastase er-

---

1) Haberlandt, Ber. d. d. botan. Ges. VIII. 40.
2) Tangl, Sitzb. Wien. Acad. Math.-Naturw. Kl. 92. S. 72.
3) Aimé Girard, Ann. d. Phys. et Chim. (6.) III. 289 (1884).
4) Brown und Morris, Journ. Chem. Soc. 57. 493 (1890).

[illegible] genaue Untersuchungen besonders von Krabbe[1]), A. Meyer[2]) [illegible] angestellt worden, auf die ich hier nicht genauer eingehen [illegible] Einzelheiten s. auch bei Green-Windisch, l. c.)

Die Diastase scheint in den höheren Pflanzen meist als Zymogen [illegible], da sehr häufig frische Wasserextracte unwirksam sind, [illegible] aber oder Ansäuern wirksamer werden (Baranetzky[4]), [illegible] Morris[5]), Reychler[6])). Frankhauser[7]) wies die Bildung von Ameisensäure bei der Keimung der Gerste nach, die wohl [illegible] Wichtigkeit für die Enzymwirkung besitzt.

Diastasen in Kryptogamen. Sacharificirende Fermente in Kryptogamen (Algen, Pilzen, etc.) hat wohl zuerst Kosmann[8]) gefunden. [illegible] fand Diastase in Pilzen (Aspergillus niger), Wortmann[10]) in der Lohblüthe (Fuligo septica).

Später hat besonders Bourquelot[11]) die Pilze in zahlreichen [illegible] systematisch auf Fermente untersucht und dabei auch weit[illegible] Diastase gefunden. Besondere Wichtigkeit für die Technik [illegible] Vorkommen diastatischer Fermente in Hefeinfusen. Hefe [illegible] die Fermente, die Stärke in Glucose umwandeln, so dass [illegible] befähigt ist, Stärke zu vergähren, wenn auch die Diastase [illegible] geringer Menge darin enthalten ist.

[illegible] enthalten Diastase, so dass sie Stärke und [illegible] direct vergähren können (Gayon und Dubourg[12])), [illegible] (Fermi[13])).

[illegible] Schimmelpilze hat auf verschiedene Enzyme mit ver[illegible] Schäffer[14]) untersucht.

[illegible] Pilzen fanden Diastasen Hartig[15]) (Trametes

1) [illegible] f. wissensch. Bot. XXI.
2) [illegible] üb. d. Stärkekörner, cit. n. Grüss.
3) [illegible] Festschrift f. Schwendener. Berlin 1899. S. 184.
4) [illegible]
5) [illegible], a. d. a. O.
6) [illegible] Ber. 22. 414 (1889).
7) [illegible] Bern 37. Nr. 26, cit. n. Green, Ann. of
8) [illegible]
9) [illegible] 27 (1877). 251.
10) [illegible] S. 142 u. 164.
11) [illegible] VI. 324.
12) [illegible] mycol. d. France. IX. 230; X. 235.
13) [illegible] Ann. Past. I. 532 (1886).
14) [illegible]
15) [illegible] ein. Schimmelpilzen hervorgebr. Enzyme.
[illegible] d. Holzes. Berlin 1878. S. 23.

radiciperda) und Kohnstamm[1]) (Merulius lacrymans, Polyporus squamosus, Agaricus melleus).

Eine eigenartige Symbiose von Diastase producirenden Schimmelpilzen mit Alkohol bildenden Sacharomyceten findet sich in den Hefen. welche bei den ostasiatischen Culturvölkern zur Erzeugung alkoholischer Getränke, besonders aus Reis, benutzt werden.

Am bekanntesten ist die Kojihefe, die das Sake, den japanischen Reiswein, liefert. Sie enthält einen Pilz, den Aspergillus Oryzae, der ein diastatisches Ferment, die Takadiastase, liefert, indessen nach neueren Arbeiten nicht auch für die Alkoholbildung verantwortlich zu machen ist (s. b. alkoh. Gährg.). Die Takadiastase ist zuerst von Atkinson[2]) beschrieben, dann von Kellner, Mori und Nagaoka[3]) und Büsgen[4]) näher untersucht worden. Wróblewski[5]) hat ihre Reindarstellung versucht, doch ist seiner vorläufigen Mittheilung eine weitere bis jetzt noch nicht gefolgt. Sie wirkt nach Untersuchungen von Stone und Wright[6]), sowie von Takamine[7]) sehr viel energischer auf Stärke als Malzdiastase. Sie ist auch nicht so empfindlich gegen Salzsäure wie Malz- und Speicheldiastase (Wingrave)[8]). Milchsäure dagegen wirkt stark hemmend.

Ganz ähnliche Verhältnisse finden wir bei der tonkinesischen Hefe, die von Calmette[9]) und Sanguinetti[10]) untersucht worden ist. Es findet sich dort ein den Mucorarten mindestens sehr nahestehender Schimmelpilz, der Amylomyces Rouxii, der reichlich Diastase erzeugt, neben einigen dem S. pastorianus ähnlichen Sacharomyceten, die alkoholische Gährung bewirken. Die Amylomycesdiastase ist nach Sanguinetti schwächer als die Takadiastase.

Auch aus Bacterien hat man diastatische Fermente isoliren können, z. B. aus Choleravibrionen (Bitter[11]), Wood[12])), Bacillus me-

---

1) Kohnstamm, Die Ferm. holzzerstör. Pilze. Diss. Erlangen 1900.

2) Atkinson, Monit. scientif. 1882. 7.

3) Kellner, Mori und Nagaoka, Z. phys. Ch. XIV. 297.

4) Büsgen, Ber. d. d. bot. Ges. III. S. LXVI (1885).

5) Wróblewski, Chem. Ber. **31**. 1132 (1898).

6) Stone und Wright, Journ. of the americ. chem. soc. XX. 637. Maly's Jb. 1899. 720.

7) Takamine, Maly's Jb. 1899. 721.

8) Wingrave, Lancet **1898**. I. 1251.

9) Calmette, Ann. Inst. Past. VI. 604 (1892).

10) Sanguinetti, Ann Inst. Past. XI. 264 (1897).

11) Bitter, Arch. f. Hygiene V.

12) Wood, Labor. Rep. Royal. Coll. Phys. Edinburgh II, cit. n. Green, Annals of Bot. VII. 120.

leidet, sind genaue Untersuchungen besond
und Grüss[3] angestellt worden, auf die
kann. (Einzelheiten s. auch bei Green
Die Diastase scheint in den höhere
vorzukommen, da sehr häufig frische V
beim Stehen aber oder Ansäuern wirk
Brown und Morris[5], Reychler[6]).
dung von Ameisensäure bei der Kein
eine gewisse Wichtigkeit für die Enz

Diastasen in Kryptogamen. Sa
gamen (Algen, Pilzen, etc.) hat wo
Duclaux[9] fand Diastase in Pilzen
mann[10]) in der Lohblüthe (Fulig
Später hat besonders Bourq
Arbeiten systematisch auf Ferment
verbreitet Diastase gefunden. Bes
hat das Vorkommen diastatischer
enthält alle die Fermente, die Stä
sie indirect befähigt ist, Stärke zu
nur in geringer Menge darin enth
Auch Mucorarten enthalten
auch Dextrine direct vergähren
desgleichen Actinomyces (Ferr
Andere Schimmelpilze ha
schiedenem Erfolg Schäffer[14])
In holzzerstörenden Pilzen

... vor allem
Alkohol fällbar
. Perdrix
alle Microorganis-
Nachweis geführ
...atische Vorgänge

... ferner Eijkman, C. f.

XII. 713.

1) Krabbe, Jahrb. f. wissens
2) A. Meyer, Unters. üb. d. S
Grüss l. c. und Festschri
Brown und Morris, a.
Reychler, Chem. Ber. 2
... Der Ba.
... XII
... Bull. soc.
Duclaux, Chim. biolog.
Wortmann, Z. phys.
... Bull. so
... Dunod
... C. f. Bact. XI
... Bot. ...
... Die Zers

Sechzehntes Capitel.

:he Fermente im Thierkörper.

·rmente spielen auch bei der thierischen Verdauung :ndem sie die unlösliche, nicht resorbirbare Stärke :ycogen in lösliche, verwerthbare Zucker überführen. ·esonders im Speichel, im Darmsaft, der Leber und

.tische Ferment des Mundspeichels. Der organische ·ndspeichels wurde von Berzelius[1]) mit dem Namen ..: späterhin ging dieser Name auf das diastatische · Speichels über.

:keit des Mundspeichels, Stärke zu lösen und in redu- ··r überzuführen, wurde von Leuchs[2]) entdeckt und bald Schwann[3]) näher untersucht. Mialhe[4]) fällte das wirk- p mit Alkohol. Cohnheim[5]) riss es nach der Brücke- ·ode (s. Pepsin) durch phosphorsauren Kalk aus der Lösung ·s in Wasser und fällte mit Alkohol.

·peicheldiastase liefert genau dieselben Abbauproducte, wie :liche Diastase. Auch hier nahm man zunächst die Entstehung ·ose an, bis durch die Arbeiten von Seegen[6]) und Nasse[7]) ·er als von der Glucose verschieden erkannt wurde. Nasse :hn Ptyalose und hielt ihn für verschieden von Maltose. ng und Musculus[8]) stellten dann aber die Maltose aus dem

cit. nach Schlesinger, Virch. Arch. **125**. 146 (dort umfassende Litteratur :undspeichel).

· Leuchs, Kastner's Archiv f. d. ges. Naturlehre. 1831, cit. n. Schle- ··r, l. c.

3) Schwann, Poggendorff's Ann. **38**. 359.

4) Mialhe, C. R. XX. 954.

5) Cohnheim, Virch. Arch. **28**. 241 (1865).

6) Seegen, Centralbl. med. Wiss. **1876**. 849.

7) Nasse, Pflüg. Arch. XIV. 477.

8) Musculus und v. Mering, Z. phys. Ch. II. 403.

Reactionsproduct dar, die neben Dextrin zunächst ausschliesslich entsteht[1]), desgleichen Külz[2]) aus Glycogen durch Mundspeichel. Sie fanden auch Isomaltose[3]).

Allerdings entsteht durch Speicheleinwirkung aus der Maltose weiterhin auch Glucose, da der Speichel auch Maltase enthält (s. d.), Invertase dagegen fehlt ihm.

Die Speicheldiastase scheint nicht völlig mit der Malzdiastase identisch zu sein, worauf wohl zuerst Dufresne[4]) aufmerksam gemacht hat.

Der Unterschied soll einerseits in der „Tötungstemperatur" liegen, indem sie schon bei 65°—70°, nach Bourquelot[5]) sogar schon von 58° ab unwirksam wird, also wesentlich empfindlicher als die Malzdiastase ist, doch hängt nach Biernacki[6]) dieser Punkt sehr von dem Verdünnungsgrade ab. Ferner soll sie gegen Salicylsäure von einer Concentration unter 1 Proc. unempfindlich sein, während Malzdiastase schon in 0,05 proc. Lösung der Säure unwirksam wird (Müller[7])).

Schliesslich sollen Neutralsalze anders auf sie einwirken (Nasse[8])).

Andererseits bestreitet Pugliese[9]) überhaupt den Unterschied beider Diastasen: ihre Eigenschaften werden so stark von Beimengungen beeinflusst, dass den gefundenen Differenzen kein grosser Werth beizumessen wäre.

Durch schwache Säuren wird die Wirksamkeit der Diastase begünstigt[10]) (Schierbeck[11])), durch Salzsäure von der Concentration des Magensaftes unwirksam gemacht (Kübel[12])).

Es schliesst sich hieran die wichtige Frage, ob die diastatische Wirkung des Speichels auf die Mundhöhle beschränkt ist, oder noch im Magen fortdauere (ältere Litteratur darüber s. b. Schlesinger l. c.). Es scheint, als ob sie eine gewisse Zeit lang erhalten bleibt (Kübel[12]));

1) v. Mering, Z. phys. Ch. V. 185 (1881).
2) Külz, Pflüg. Arch. XXIV. 81.
3) s. a. Hamburger, Pflüg. Arch. 60. 545.
4) Dufresne, C. R. 89. 1070.
5) Bourquelot, C. R. 104. 71.
6) Biernacki, Z. f. Biol. 28. 49.
7) Müller, J. prakt. Ch. N. F. X. 444.
8) Nasse, Pflüg. Arch. XI. 156 (1875).
9) Pugliese, Pflüg. Arch. 69. 115 (Litteratur).
10) Siehe indessen dazu b. Schlesinger, Virch. Arch. 125. 167.
11) Schierbeck, Scand. Arch. f. Phys. III. 344, s. a. Chittenden und Griswold, Americ. Chem. Journ. III. 205 (1882).
12) Kübel, Pflüg. Arch. 76. 276 (Litteratur).

nach Richet[1]) wirkt sie sogar im Magen energischer als im Mund, schliesslich wird sie indessen sicher aufgehoben (Langley[2])). Hensay[3]) giebt an, dass er bei Untersuchung des Mageninhalts die Stärke bis zu höchstens $^2/_3$ in Maltose und Dextrine gespalten, aber keine Glucose gefunden hat.

Auch Einleiten von Kohlendioxyd in neutraler Lösung wirkt schädigend (Ebstein und Schulze[4])), entgegen den Angaben von Detmer[5]) und Nasse[6]), die für CO_2 Beschleunigung fanden, während andere Gase gleichgiltig waren.

Alkalische Lösungen, auch kohlensaures Natron (Chittenden und Ely[7])) wirken hemmend (Kübel[8])); wenn man in alkalische Lösungen Kohlendioxyd einleitet, so hebt dies die schädigende Wirkung zum Theil wieder auf. Die Diastase wird also durch Alkali nicht zerstört, sondern nur gebunden und inactivirt (Ebstein und Schulze[4])).

Neutralsalze wirken meist fördernd, besonders Kochsalz bis zu einer gewissen Concentration, die von der Concentration des Stärkekleisters abhängt (Kübel l. c.). Magnesiumsulfat und Sublimat hemmen sehr stark, Brechweinstein fördert bei gleicher Concentration (Chittenden und Painter[9])). Arsenige Säure ist ohne Wirkung (Schäffer und Böhm[10])), Peptone wirken fördernd (Chittenden und Ely l. c.), Alkaloïde nach beiden Richtungen hin (Nasse[11])), Antipyrin ist ohne Wirkung. Paraldehyd hemmt beträchtlich, Thallinsulfat wirkt in sehr schwachen Dosen fördernd, in 1 proc. Lösung schon schädlich (Chittenden und Stewart[12])).

Alkohol hemmt die Fermentation (Watson[13])); auch Thymol (Schlesinger[14])), Salicylsäure über 1 Proc. (Müller[15])), Chloroform, aber nicht Toluol (Pugliese[16])).

---

1) Richet, Journ. de l'anat. et phys. XIV. 285.
2) Langley, J. of phys. III. 246.
3) Hensay, Münch. Med. Woch. **1901**. 1208.
4) Ebstein und Schulze, Virch. Arch. **134**. 475.
5) Detmer, Z. phys. Ch. VII. 1 (1882).
6) Nasse, Pflüg. Arch. XV. 477 (1877).
7) Chittenden und Ely, J. of phys. III. 327.
8) Kübel, Pflüg. Arch. **76**. 276 (Litteratur).
9) Cit. n. Schlesinger, Virch. Arch. **125**. 170.
10) Schäffer und Böhm, Würzb. Phys. med. Soc. N. F. III. 238.
11) Nasse, Pflüg. Arch. XI. 145 (1875).
12) Chittenden und Stewart, Maly's Jb. XX. 248 (1890).
13) Watson, Journ. Chem. Soc. **35**. 539 (1879).
14) Schlesinger, Virch. Arch. **125**. 340.
15) Müller, J. prakt. Ch. N. F. X. 444.
16) Pugliese, Pflüg. Arch. **69**. 115.

Die beste Temperatur ist ca. 45°; über die Tötungstemperatur s. o. Eine Temperatur von — 20° schädigt das Enzym nicht (Paschutin[1])).

Wirkungsweise der Speicheldiastase. Die Producte der diastatischen Wirkung auf Stärke sind die gewöhnlichen: Maltose und Dextrine (s. das Weitere oben bei der Besprechung der Diastase im Allgemeinen).

Während Stärkekleister der verschiedensten Stärkearten gleichzeitig vom Speichel angegriffen wurde, fand Hammarsten[2]), dass die rohen Stärkekörnchen von Speichel sehr verschieden energisch gelöst wurden, und zwar Kartoffelstärke weitaus langsamer als Maisstärke; die anderen Stärkearten zeigten Zwischenwerthe. Fein pulverisirte Kartoffelstärke dagegen wurde schnell gelöst, desgl. gekaute. Unversehrte Stärkekörnchen werden nach Bourquelot[3]) überhaupt nicht angegriffen, da das Speichelferment die cellulosehaltige Wandschicht der Körnchen nicht durchdringen kann. Doch behauptet Brasse[4]), dass Diastase auch rohe Stärke angreift.

Solera[5]) hat ebenfalls verschiedene Stärkesorten im Verhalten zum Speichelferment geprüft. Er fand, dass sowohl die Gewichtsverhältnisse zwischen angewandter Stärke und erhaltenem Zucker schwankend sind, als auch die Zeit, in der gleiche Zuckermengen entstehen; und constatirte, dass die sich schnell zersetzenden Stärkesorten durchaus nicht nothwendig auch den meisten Zucker liefern müssen, dass im Gegentheil die Kartoffelstärke bei grösster Schnelligkeit die geringste Zuckermenge liefert. Andere quantitative Untersuchungen sind u. A. von Lea[6]) und Kübel[7]) angestellt.

Die mehr oder minder energische Einwirkung hängt von der relativen Menge des Ferments ab.

Das Zeitgesetz ist anscheinend das gleiche wie für das Pepsin (Schütz-Borissow); die Geschwindigkeit ist proportional der Wurzel aus der Fermentconcentration.

Die Diastase kann nach Paschutin[8]) nicht unbegrenzte Mengen Stärke verzuckern.

1) Paschutin, Müller-Reichert's Arch. 1871.
2) Hammarsten, Virchow-Hirsch Jb. 1871. S. 95.
3) Bourquelot, C. R. 104. 71.
4) Brasse, C. R. 100. 454.
5) Solera, Maly's Jb. 1878. 235.
6) Lea, J. of phys. XI. 234 (1890).
7) Kübel, Pflüg. Arch. 76. 276.
8) Paschutin, Centr. med. Wiss. 1871. 273.

Bei relativ wenig Ferment entstehen vorwiegend die höheren Producte, Dextrine (Grützner[1])). Aehnlich wirkt relativ hohe Temperatur.

Die durch Wärme abgeschwächte Diastase hat nach Bourquelot[2]) nicht die Eigenschaft eingebüsst, die ersten Umwandlungen der Stärke (s. o.) zu bewirken, die sich vielmehr mit gleicher Schnelligkeit vollziehen. Dagegen ist die weitere Einwirkung völlig aufgehoben, so dass keine typischen Endproducte entstehen.

Bei menschlichen Neugeborenen soll das Speichelferment nur in der Parotis und auch dort sehr spärlich vorhanden sein (Bidder und Schmidt[3])). Zweifel[4]) und Korowin[5]) fanden indessen regelmässig eine diastatische Wirksamkeit der frisch herausgenommenen Parotis.

Pathologischer Speichel ist auf seinen Fermentgehalt von Zweifel[4]) untersucht worden. Bei Soor scheint das Ferment zu fehlen. Bei einer Angina catarrhalis erwies es sich normal (Salkowski[6])).

Der Speichel enthält nicht bei allen Thieren diastatisches Ferment. Man findet es beim Menschen und Herbivoren (Grützner[7])). Es fehlt ferner in der Gland. submaxillaris, z. B. der Kaninchen (Schiff[8]), Grützner[9]), Langley[10])). Am stärksten soll der gemischte Speichel der Nager (Ratte) wirken, dann der der Carnivoren; bei Schaf und Ziege am schwächsten (Astaschewski[11])). Sehr kräftig wirkt auch der des Pferdes (Ellenberger und Hofmeister[12])). Krukenberg[13]) fand es bei Fischen im Speichel und der Mundschleimhaut weit verbreitet.

Die Pankreasdiastase (Amylopsin[14])). Die diastatische Wirkung des Bauchspeichels wurde von Bouchardat und Sandras[15]) entdeckt.

1) Grützner, Pflüg. Arch. XII. (1876).
2) Bourquelot, C. R. 104. 576.
3) Bidder und Schmidt, Verdauungssäfte. 1852. S. 23.
4) Zweifel, Unters. üb. den Verdauungs-App. der Neugeborenen. Berlin 1874.
5) Korowin, Centralbl. med. Wiss. 1873. 261. 305.
6) Salkowski, Virch. Arch. 109. 358 (1887).
7) Grützner, Pflüg. Arch. XII. 285.
8) Schiff, Leç. d. l. phys. de la digestion. (1867.) I. 204.
9) Grützner, Pflüg. Arch. XVI. 105.
10) Langley, Journ. of Physiol. I. 68.
11) Astaschewski, Centralbl. med. Wiss. 1877. 531.
12) *Ellenberger und Hofmeister, Arch. f. wiss. u. prakt. Thierheilkunde. XII. 265 (1881).
13) Krukenberg, Unters. physiol. Inst. Heidelb. II. 41. 389.
14) Wingrave, Lancet. 1898. I. 1251.
15) Bouchardat und Sandras, C. R. XX. 143. 1085. (1845).

Sie ist sowohl in dem Secret als in dem Infus der Drüse nachzuweisen.

Die Pankreasdiastase ist sehr ähnlich dem Speichelferment (Hammarsten[1]), aber nach Vernon[2]) doch wahrscheinlich von ihr verschieden, sicher aber von der Malzdiastase.

Wirksame Extracte werden nach derselben Methode hergestellt, wie man das proteolytische Pankreasferment herstellt (s. b. Trypsin). Sie enthalten natürlich auch die anderen Fermente. Danilewski[3]) versuchte mit Hilfe von Collodiumfällung ein nur diastatisch wirkendes Ferment zu erhalten; Cohnheim[4]) nach derselben Methode wie beim Speichelferment, v. Wittich[5]) mit wasserfreiem Glycerin, das Trypsin nicht löst, nach vorheriger Behandlung mit Alkohol. Glycerinextracte wandte auch Nasse[6]) an.

Paschutin[7]) giebt an, dass man mit Hilfe von sauerem arsensaurem Kalium fast ausschliesslich das diastatische Ferment aus dem Pankreas isoliren kann, während andere Salzlösungen alle Fermente extrahiren. Aus permanenten Fisteln erhält man häufig einen nur diastatisch wirkenden Saft[8]), was wohl auf die inactive Form des Trypsins zurückzuführen ist (s. b. Enterokinase).

Die entstehenden Producte sind dieselben, wie bei den anderen Diastasen[9]), auch Glucose wird gebildet, was durch die Anwesenheit von Maltase bedingt ist.

Nach Nasse[10]) ist sie von der Diastase des Malzes und des Speichels dadurch verschieden, dass sie von Neutralsalzen anders beeinflusst wird.

Ihre Wirksamkeit wird ebenfalls bei ca. 65° aufgehoben.

Quantitativ hat ihre Wirksamkeit u. A. Roberts[11]) untersucht.

Grützner[12]) fand, dass die diastatische Wirksamkeit des Pankreas am schwächsten 6 Stunden, am kräftigsten 14 Stunden nach der Mahlzeit ist. Nach seinen Versuchen hindert Chlornatrium erst bei hoher

1) Hammarsten, Lehrb. phys. Ch. 1895. 262.
2) Vernon, Journ. of phys. 28. 156 (1902).
3) Danilewski, Virch. Arch. XXV. 279.
4) Cohnheim, Virch. Arch. 28. 251.
5) v. Wittich, Pflüg. Arch. II. 196.
6) Nasse, Pflüg. Arch. XIV. 473 (1877).
7) Paschutin, Müller-Reichert's Arch. 1873. 382.
8) Gamgee, l. c. S. 221.
9) v. Mering und Musculus, Z. phys. Ch. II. 411. Hamburger, Pflüg. Arch. 60. 569.
10) Nasse, Pflüg. Arch. XI. 156.
11) Roberts, Proceed. Royal Soc. 32. 145.
12) Grützner, Pflüg. Arch. XII. 292.

Concentration, 6 Proc., die Diastasewirkung, kohlensaures Natron dagegen schon in 0,05 proc. Lösung. Die stark hemmende Wirkung des letzteren Salzes wird von Gans[1]) bestätigt. Bei Neugeborenen soll die Pankreasdiastase fehlen (Korowin[2])).

Grützner und Wachsmann[3]) fanden, dass NaCl bis zu $^1/_8$ N fördert, ebenso NaBr und NaJ, weniger NaF. Alkalien, Sulfate, Sublimat hemmen. Fördernd wirken ferner sehr verdünnte Säuren, ($^1/_{1600}$—$^1/_{800}$ N), vor allem HCl; Alkohol, Chloroform, Aether, Thymol hemmen.

Nach Versuchen von Roberts[4]) und Floresco[5]) ist das Pankreas des Schweines diastatisch am wirksamsten, während das vom Ochsen, Schaf und Hund viel schwächer wirkt. Nach Hamburger[6]) wirkt das des Hundes stärker als das des Rindes.

Vernon (l. c.) hat ebenfalls zwischen den einzelnen Pankreasextracten beträchtliche Differenzen in der Wirkung gefunden. Er fand aber Ochsen- und Schafpankreas am stärksten wirksam, doch bezieht sich dies anscheinend nur auf das schnelle Verlaufen der ersten Stadien, der Stärkelösung; nachher gleicht es sich mehr aus.

Ganz isolirt steht die Behauptung von Chlodounski und Sulc[7]), dass Stärke bei Pankreaseinwirkung zum grossen Theil unverändert bleibt, dass ferner Dextrine und Glucose, keine Maltose entsteht.

Diastasezymogen. Während es für das Pepsin und Trypsin (s. d.) sichergestellt ist, dass nicht die activen Fermente selbst, sondern eine Vorstufe, ein Zymogen, in den Drüsen enthalten ist, ist diese Annahme für die Pancreasdiastase noch nicht bewiesen, obwohl wahrscheinlich.

Liversidge[8]) entfernte zunächst das diastatische Enzym aus dem Pankreas; dann setzte er den Rückstand der Luft aus: ein neues Infus zeigte wieder starke diastatische Wirkung. Wenn also ein Zymogen existirt, muss es wasserunlöslich sein, da in wässrigen Lösungen eine Zunahme der Wirksamkeit durch irgend welche Agentien, wie bei anderen Zymogenen nicht beobachtet werden kann.

---

1) Gans, Verh. Congr. innere Med. 1896. 449.
2) Korowin, Centralbl. med. Wiss. 1873. 261. 305.
3) Grützner und Wachsmann, Pflüg. Arch. 91. 195 (1902).
4) Roberts, l. c.
5) Floresco, Soc. Biol. 48. 77 (1896).
6) Hamburger, Pflüg. Arch. 60. 557.
7) Chlodounski und Sulc, Sitzb. d. k. böhm. Acad. d. Wiss. 1896 (böhmisch). Maly's Jb. 1896. 67.
8) Liversidge, Journ. of anat. and physiol. VIII. 23 (1874).

Nach eigenthümlichen Beobachtungen, die Goldschmidt[1]) am Parotidenspeichel des Pferdes gemacht hat, ist auch für diesen die Existenz eines Zymogens nicht von der Hand zu weisen, das durch Einfluss der Luft wirksam wird.

Nach den Untersuchungen von Pawlow und seinen Schülern wird Pankreasdiastase niemals in Zymogenform secernirt. Ein lösliches Zymogen existirt auch nach Vernon[2]) nicht, wohl aber ein unlösliches Prozymogen, entsprechend dem unlöslichen Prozymogen des Trypsins, das dann direct in das lösliche Enzym selbst übergeht, so dass tagelang wieder jeder Extract der Drüse wirksames Enzym enthält, da inzwischen Zymogen in actives Ferment übergegangen ist.

Das diastatische Ferment des Dünndarms. Während man früher annahm, dass die Dünndarmschleimhaut kein diastatisches Ferment enthielte (z. B. Thiry, Leube, Lehmann[3])), ist heute mit Sicherheit nachgewiesen, dass thatsächlich eine Spaltung der Stärke im Darmsaft stattfindet (Gumilewski[4]), Lannois und Lépine[5]), Eichhorst[6]), Paschutin[7]), Dobroslawin[8])). Brown und Heron[9]), Bastianelli[10]), Tebb[11]) u. A. wiesen Maltose als Product dieser Spaltung nach. Hamburger[12]) schreibt dem Darmsaft sehr geringe diastatische Kraft zu; er fand fast nur Glucose, ebenso Pregl[13]), die aber sicher erst secundär aus der Maltose entsteht (s. b. Maltase). Röhmann[14]) fand wie Lannois und Lépine, dass der obere Theil des Dünndarms viel energischer wirkt als der untere. Es wirkt sowohl der Darmsaft selbst, als auch die getrocknete Schleimhaut oder Glycerinextracte daraus. Dagegen sollen nach Grützner[15]) die Brunnerschen Drüsen keine Diastase enthalten. Grünert[16]) fand Diastase und Invertase im Darm.

1) Goldschmidt, Z. phys. Ch. X. 273.
2) Vernon, J. of physiol. 28. 137 (1902).
3) cit. n. Röhmann, Pflüg. Arch. 41. 424 (dort ältere Litt.).
4) Gumilewski, Pflüg. Arch. 39. 564.
5) Lannois und Lépine, Arch. d. phys. 1883. 92.
6) Eichhorst, Pflüg. Arch. IV. 584.
7) Paschutin, Müller-Reichert's Arch. 1871.
8) Dobroslawin, Unters. Anat.-Phys. Inst. Graz 1870. S. 68.
9) Brown und Heron, Lieb. Ann. 204. 228.
10) *Bastianelli, Moleschott's Untersuch. 1892. 138.
11) Tebb, Journ. of physiol. XV. 421 (1893).
12) Hamburger, Pflüg. Arch. 60. 560.
13) Pregl, Pflüg. Arch. 61. 388.
14) Röhmann, Pflüg. Arch. 41. 424.
15) Grützner, Pflüg. Arch. XII. 285.
16) Grünert, Centralbl. f. Physiol. V. 285.

Im Inhalt des menschlichen Colons fand Hemmeter[1]) Diastase.

Im Darm des Flusskrebses fand Hoppe-Seyler[2]) ein diastatisches Ferment, in dem der Bienen Erlenmeyer[3]), in dem „Leber"-secret der Schnecken Krukenberg[4]) u. A.[5]). Im Aftersecret der Schaumcicaden (Aphrophora) Gruner[6]).

Die Leberdiastase. Dass die Leber ein stärkeähnliches Kohlehydrat, das Glycogen, enthält, das sie aus dem Traubenzucker des Blutes aufbaut, und dass dieser Stoff nach dem Tode und wohl auch intra vitam leicht in Zucker übergeht, ist besonders durch die Arbeiten von Claude Bernard[7]) bekannt geworden.

Das Glycogen ist der Stärke ähnlich, soll aber noch complicirter gebaut sein[8]).

Es geht sowohl bei der Säurespaltung als auch durch Diastase in einfachere Zucker über. Es entsteht dabei Maltose (Külz und Vogel[9])).

So lag es nahe, anzunehmen, dass diese Umwandlung in der Leber auch durch ein diastaseähnliches Ferment bewirkt würde.

v. Wittich[10]) giebt an, dass er durch Glycerinextraction der getrockneten Leber ein diastatisches Ferment erhalten habe, auch aus der völlig entbluteten, so dass er ein eigenes Leberferment annimmt. Er fand es auch in der Galle. Er erhielt diese Extracte niemals ganz zuckerfrei. Seegen und Kratschmer[11]) erzielten durch Glycerin aus blutfrischen Kaninchenlebern zuckerfreie Extracte, die das diastatische Ferment und Glycogen enthielten, das beim Verdünnen mit Wasser in Zucker überging.

Abeles[12]) hat zuerst angegeben, dass das Ferment postmortal entstehe, und dass er aus gekochten Lebern das Ferment ebenfalls erhalten habe.

Seegen und Kratschmer wollten die diastatische Wirkung einfach auf die Eiweisssubstanzen zurückzuführen, doch sind alle diese

---

1) Hemmeter, Pflüg. Arch. 81. 151 (1900).
2) Hoppe-Seyler, Pflüg. Arch. XIV. 394.
3) Erlenmeyer, Münch. acad. Sitzb. Math.-Naturw. Kl. 1874. 205.
4) Krukenberg, Unters. physiol. Inst. Heidelberg. II. 75. 411 (1878).
5) s. b. Biedermann und Moritz, Pflüg. Arch. 73. 247 (1898).
6) Gruner, Biol. Unters. an Schaumcicaden. Diss. Berlin 1901.
7) Cl. Bernard, C. R. 41 (1855); 85. 519 (1877).
8) Heine, Fortschr. d. Medicin. XIII. 789.
9) Külz und Vogel, Z. f. Biol. 31. 108; s. a. Musculus und v. Mering, Z. phys. Ch. II. 416.
10) v. Wittich, Pflüg. Arch. VII. 28.
11) Seegen und Kratschmer, Pflüg. Arch. XIV. 593.
12) Abeles, Med. Jahrbücher. II. Heft. 1876. cit. n. Schwiening.

älteren Versuche gegenstandslos, da Bacterienwirkungen nicht ausgeschlossen waren. Schwiening[1]) zeigte, dass unter Chloroformwirkung diese Reaction ausbleibt, und fand wie Abeles ein postmortal auch aus gekochten Lebern entstehendes Ferment. Pavy[2]) und Tebb[3]) nehmen ein intra vitam wirksames Ferment an, da die Leber ihre diastatische Kraft auch bei langem Stehen unter Alkohol behält.

Die Frage, ob das zweifellos in der toten Leber sich findende diastatische Ferment erst postmortal entsteht, ist deshalb von Bedeutung und sehr eifrig discutirt worden, weil mit ihr die viel wichtigere Frage nach der Spaltung des Glycogens während des Lebens zusammenhängt. Es entsteht nämlich hier der Zweifel, ob diese Spaltung auch wie die der Eiweisskörper und Kohlehydrate im Darm eine einfach enzymatische oder aber eine specifisch vitale, nur von der lebenden Zelle ausgeübte ist, und sich nach der Herausnahme des Organs nur noch bis zum allmählichen Erlöschen fortsetzt.

Die Fermenttheorie wird u. A. von Salkowski[4]), Bial[5]) und Richet[6]) acceptirt, Cavazzani[7]) und Paton[8]) lehnen sie dagegen ab. Salkowski schliesst daraus, dass frische Leber Glycogen spaltet, wenn das Protoplasma durch Chloroform getötet ist, dass hier ein Ferment wirksam ist. Cavazzani[9]) wendet gegen diesen scheinbar stringenten Beweis ein, dass es sich dabei wohl um die sacharificirende Wirkung des in der Leber enthaltenen Blutes handeln möge. Er hält an der vitalen Anschauung fest und glaubt dafür den Beweis erbracht zu haben. Wenn er nämlich die Leberzellen anstatt mit Chloroform mit Methylviolett lähmte, erhielt er keine sacharificirende Wirkung des frisch herausgenommenen Organs. Ebenso soll Chinin, das auf Fermente keine Wirkung hat, die sacharificirende Kraft der Leber erheblich herabsetzen, auch die Leber chininvergifteter Hunde sehr wenig Glucose enthalten, wie Cavazzani[9]) in seiner letzten Arbeit angiebt, in der er an seinem Widerspruch gegen die Fermenttheorie stricte festhält. Auch Eves[10]) hält die Zuckerspaltung der Leber nicht für enzymatisch.

---

1) Schwiening, Virch. Arch. 136. 444.
2) Pavy, Journ. of physiol. 22. 391 (1898).
3) Tebb, Journ. of physiol. 22. 427 (1898).
4) Salkowski, Pflüg. Arch. 56. 339.
5) Bial, Du-Bois Arch. 1901. 247.
6) Richet, Soc. Biol. 46. 525 (1894).
7) Cavazzani, Arch. ital. d. Biol. 28. 91 (1898).
8) Paton u. A., Philosoph. Transact. 185. 277 (1897).
9) Cavazzani, Arch. ital. d. Biol. 32. 350 (1899).
10) Eves, Journ. of Physiol. V. 342.

Den Cavazzani'schen Arbeiten trat dann wieder Bial[1]) entgegen, der energisch für die enzymatische Natur des Verganges eintritt und das normale Ferment der Lymphe dafür verantwortlich macht.

Einen vermittelnden Standpunkt in dieser Frage nimmt Dastre[2]) ein. Er hält die Leberdiastase für ein Endoenzym, vergleichbar der Hefeinvertase, das im Allgemeinen fest an der lebenden Zelle haftet und nur durch besondere Massnahmen daraus isolirt werden kann. Eine solche Procedur ist z. B. die Dialyse unter Einfluss von Chloroform, bei der Permilleux[3]) die Existenz eines zuckerbildenden Enzyms nachweisen konnte.

In jüngster Zeit ist die ganze Frage mit ausführlicher Entwicklung der älteren Ansichten von F. Pick[4]) wieder aufgerollt worden.

Er entblutete die Leber durch Auswaschen der Gefässe, behandelte das zerhackte Gewebe mit Alkohol und extrahirte mit 2 ‰ Fluornatriumlösung in 0,8 % Na Cl.

Das Glycogen nahm in wenigen Stunden deutlich ab, nicht aber nach vorherigem Aufkochen. Die Wirkung war viel stärker als die des Blutes, kann also nicht auf den Blutgehalt des Organs bezogen werden. Ebensowenig kann es allein auf den Lymphgehalt ankommen, wie Bial will.

Im übrigen sieht er die Leberzelle als die Quelle des Ferments an und entwickelt ähnliche Ansichten über den engeren Zusammenhang mit der lebenden Zelle wie Dastre.

Danach ist also wohl die Existenz eines diastatischen Enzyms der Leber als erwiesen anzusehen. Ausserdem muss allerdings die Leber reichlich Maltase (s. d.) produciren, da der Leberzucker nicht Maltose, sondern nur Glucose ist.

Vorkommen in anderen Organen und Secreten.

Im Blut kommt ein diastatisches Ferment vor, wie schon lange bekannt ist[5]).

Plósz und Tiegel[6]) fanden ein sacharificirendes Ferment, gebunden an die Blutkörperchen und für gewöhnlich unwirksam, das aber durch verschiedene Agentien, z. B. Gefrierenlassen etc., wirksam wird. v. Wittich[7]) und Bial[8]) dagegen fanden die körperlichen

1) Bial, Du Bois Arch. 1901. 247.
2) Dastre, Soc. Biol. 53. 34 (1902).
3) Permilleux, Soc. Biol. 53. 32 (1902).
4) Pick, Hofm. Beitr. III. 163 (1902) (Literatur).
5) Die ältere Litt. s. b. Bial, Pflüg. Arch. 52. 137.
6) Plósz und Tiegel, Pflüg. Arch. VI. 249; VII. 391.
7) v. Wittich, Pflüg. Arch. VII. 28.
8) Bial, Pflüg. Arch. 53. 156.

Elemente wirkungslos, sondern es nur im Serum localisirt; Bial fand gleichzeitig, dass Stärke vollständig zu Glucose aufgespalten wird (s. b. Maltase).

Röhmann[1]) fand Dextrine („Porphyrodextrin" und Achroodextrin), Isomaltose und Glucose. Hamburger[2]) fand auch Maltose.

Bial[3]) giebt ferner an, dass menschliches Blut schwächer diastatisch wirkt, als das der untersuchten Thiere (Schwein, Rind, Hund etc.); im Blut von Neugeborenen und Thierföten konnte er Diastase höchstens in Spuren constatiren, während der Fermentgehalt in den ersten Lebenswochen schnell ansteigt, und zwar anscheinend auf Kosten des abnehmenden Glycogengehalts. Bei kleinen Kindern fanden geringe Mengen Diastase Nobécourt und Sevin[4]); im ersten Monat fehlt sie fast ganz.

Zanier[5]) fand in Pfortaderblut mehr diastatisches Ferment, als in anderen Gefässen. Es wurde beim Hungern geschwächt.

Im Serum zahlreicher Thiere fanden E. Fischer und Niebel[6]) Diastase, in der Lymphe Röhmann[7]) und Bial[8]), im Chylus Panzer[9]).

In den meisten Organen des Körpers hat man, besonders v. Wittich[10]) und Lépine[11]), diastatische Fermente nachweisen können. Beim Pferd fanden Ellenberger und Hofmeister[12]) weite Verbreitung. Im Kropf, dem Hoden und der Schilddrüse, auch im Labmagen des Rindes und verschiedener Thiere fanden sie E. Fischer und Niebel (l. c.), in der Galle Jacobson[13]), v. Wittich[14]) u. A., in der Frauenmilch Béchamps[15]), im Koth v. Jaksch[16]), im Meconium Pottevin[17]).

1) Röhmann, Chem. Ber. 25. 3654. C. med. Wiss. 1893. 849.
2) Hamburger, Pflüg. Arch. 60. 570.
3) Bial, Pflüg. Arch. 53. 156.
4) Nobécourt u. Sevin, Soc. Biol. 53. 1068 (1901).
5) Zanier, Gaz. d. Ospidali 1895. 44. Maly's Jb. 26. 212.
6) Fischer u. Niebel, Sitzb. Berl. Acad. 1896. V. S.-A.
7) Röhmann, Pflüg. Arch. 52. 157 (ält. Litteratur). Röhmann u. Bial, Pflüg. Arch. 55. 419.
8) Bial, Pflüg. Arch. 55. 434.
9) Panzer, Z. phys. Ch. 30. 113 (1900).
10) v. Wittich, Pflüg. Arch. VII. 28.
11) Lépine, Sächs. Acad. 1870. S. 322.
12) Ellenberger und Hofmeister, A. f. wissensch. Thierheilk. VIII.
13) Jacobson, De sachari formatione etc. Diss. Regimonti 1865.
14) v. Wittich, Pflüg. Arch. III. 341.
15) Béchamps, C. R. 96. 1508.
16) v. Jaksch, Z. phys. Ch. XII.
17) Pottevin, Soc. Biol. 52. 589 (1900).

Croftan[1]) fand sie in reichlicher Menge in den Nebennieren des Schafes.

Im normalen Harn fand Béchamps[2]) ein diastatisches Ferment, das er als „matière albuminoide" ansieht und Nephrozymase nennt; es soll aus der Niere stammen; ferner Cohnheim[3]), Breusing[4]). Holovtschiner[5]). Gehrig[6]) fand es in verschiedenen Harnen, im Hundeharn am wenigsten.

Im diabetischen Harn fanden sie Plósz und Tiegel (l. c.); Lépine[7]) fand sie in diesem vermindert.

In pleuritischen Exsudaten fanden Eichhorst[8]), in der Cerebrospinalflüssigkeit (durch Spinalpunction erhalten) Cavazzani[9]) und Grober[10]) (in einer Hydrocephalusflüssigkeit fehlte es nach Panzer[11])), in Ascitesflüssigkeit Breusing[4]), im Hühnerei Joh. Müller[12]) ein diastatisches Ferment.

Diastatische Fermente und Diabetes. Für die Entstehung des Diabetes mellitus wird von einigen Forschern den diastatischen Fermenten eine wichtige Rolle zugeschrieben.

Lépine[13]) giebt an, dass das sacharificirende Ferment des Blutes beim Diabetes vermindert sei, desgleichen bei länger dauernder Asphyxie.

Lépine und Barral[14]) geben für den Phloridzindiabetes an, dass dabei das sacharificirende Ferment des Blutes vermehrt ist, beim gewöhnlichen Diabetes aber vermindert (s. o.)

Hildebrandt[15]) constatirte zunächst, dass das wässerige Extract von Syzygium Jambolanum in vitro die diastatische Wirkung herabsetzt und untersuchte dann[16]) den Einfluss auf den künstlich

1) Croftan, Pflüg. Arch. 90. 285 (1902).
2) Béchamps, C. R. 60. 445 (1865).
3) Cohnheim, Virch. Arch. 28. 251 (1865).
4) Breusing, Virch. Arch. 107. 186 (1887).
5) Holovtschiner, Virch. Arch. 104. 42.
6) Gehrig, Pflüg. Arch. 38. 35.
7) Lépine, l. c.
8) Eichhorst, Zeitsch. f. klin. Med. III. 537 (1881).
9) Cavazzani, C. f. Phys. X. 145; XIII. 437 (1900).
10) Grober, Münch. med. Woch. 1900. 247.
11) Panzer, Wiener klin. Woch. 1899. 805.
12) Müller, Münch. med. Woch. 1899. 1583. Müller und Masuyama, Z. f. Biol. 39. 547 (1900).
13) Lépine, Wiener med. Presse. 1892. No. 26ff. C. R. 113. 1014 (1891).
14) Lépine und Barral, C. R. 113. 1014 (1891).
15) Hildebrandt, Berl. klin. Woch. 1892. No. 1.
16) Hildebrandt, Virch. Arch. 131. 26 (1893).

durch Reizung des N. depressor am Kaninchen hervorgerufenen Diabetes. Er glaubt aus seinen Versuchen Folgendes schliessen zu können: Syzygium Jambolanum setzt thatsächlich die Zuckerausscheidung herab; da aber sein Einfluss auf die Verwerthung des einmal gebildeten Zuckers sehr gering oder gleich Null anzunehmen ist, so hat man Grund, seine Wirkung auf eine Verminderung der Bildung von Zucker, also eine Schwächung der diastatischen Kraft zurückzuführen.

Ferner fand er, dass Arsen einerseits die Diastasewirkung beeinträchtigt, andererseits nach Salkowski die Zuckerausscheidung nach der Piqûre von Cl. Bernard aufhebt.

Schliesslich fand er, dass Injection von Diastase die Assimilationsgrenze für gleichzeitig eingeführten Traubenzucker herabsetzt.

Gans[1]) hat nachgewiesen, dass in vitro die Glycogenspaltung durch Diastase verlangsamt werden kann wenn man kohlensaures Natron zusetzt. Er ist geneigt anzunehmen, dass auf dieser auch im Organismus zu erzielenden Verminderung der Zuckerproduction die klinisch erprobte heilsame Wirkung der Alkalien beim Diabetes beruht. Doch ist diese Anschauung durchaus nicht ohne Weiteres zu acceptiren. Einerseits erklärt Lépine die Vermehrung der Zuckerausscheidung durch die Verminderung der Wirksamkeit des glycolytischen Ferments (s. d.), während die Zuckerproduction dabei eine secundäre Rolle spielt; andererseits aber nimmt man beim Diabetes eine Herabsetzung der Alkalescenz des Blutes an und erklärt die heilsame Wirkung der Alkalien durch eine Wiederherstellung dieser normalen Alkalescenz.

Andererseits liegen Versuche vor, die darauf hindeuten, dass man durch Zufuhr von Diastase (intravenös) eine Art von Immunisirung gegen diastatische Fermente erzeugen kann, wodurch bei Diabetikern eine Herabsetzung der Zuckerausscheidung herbeigeführt werden kann (Kussmaul[2]), Lépine und Barral l. c.).

1) Gans, Verh. Congr. innere Medicin. 1896. 449.

2) Kussmaul, Arch. f. klin. Med. XIV. 42 (1874).

Siebzehntes Capitel.

Diastaseähnliche Fermente der Polysacharide.

Das zellwandlösende Enzym (Cellulase, Cytase).

Ausser der Reservestärke enthält das Endosperm vieler Pflanzen auch beträchtliche Mengen von Reservecellulose, resp. ähnlichen wandbildenden Substanzen. Namentlich bei den Palmen ist die Wandschicht der Zellen so enorm entwickelt, dass ihre Höhle fast verschwunden erscheint. Diese grossen Mengen von Cellulosen lösen sich nun gleich der Stärke bei der Keimung auf[1]). Diesen Auflösungsvorgang sah zuerst Mitscherlich[2]) an Kartoffelscheiben. Sachs[3]) beobachtete Lösung des Endosperms und Auftreten von Zucker. Dieser Process ist dann vielfach weiter studirt worden, wesentlich vom mikroskopisch-histologischen Standpunkt[4]). Wie Green[5]) ausführt, drängt sich bei dieser Auflösung der Gedanke an ein gelöstes Enzym a priori auf, da aus von ihm angeführten histologischen Gründen es sich schwer vorstellen lässt, in welcher Weise das Protoplasma des Cotyledos direct auf das aufzulösende Material einwirken könnte. Auch Granulabildung in den Zellen des Haustoriums, wozu sich ein Theil des Cotyledos umbildet, scheint auf eine secretorische Thätigkeit hinzudeuten. Freilich gelang es ihm nicht, in den Auszügen dieser Organe der Palmen irgend welche Enzyme nachweisen zu können.

Dagegen fanden derartige Enzyme Brown und Morris[6]) in keimenden Gerstenkörnern. Sie beobachteten, dass bei diesem

1) Die Vorgänge bei der Keimung und die Natur der Cellulosen sind genau beschrieben bei Green-Windisch, Die Enzyme. Berlin 1900. S. 90ff.

2) Mitscherlich, Berliner academ. Sitz.-B. Math.-Naturw. Kl. 1850. 102.

3) Sachs, Bot. Ztg. 1862. 243.

4) s. Reiss, Landw. Jahrb. XVIII. S. 711 (1889), wo ausführliches Referat.

5) Green, Annals of botany. VII. 93 (1893).

6) Brown und Morris, Journ. Chem. Soc. 57. 497 (1890).

Keimungsprocess die Zellwände früher anfangen sich aufzulösen, als die Stärkekörner ihre Zersetzung durch die Diastase erleiden. Die Epithelzellen des Scutellums erfahren dabei ebenfalls eine granuläre Aenderung, die auf Secretionszustände schliessen lässt, wie dies ja für die Diastase besonders von Haberlandt (s. d.) gedeutet worden ist. Sie scheinen also nicht nur diastatische, sondern auch cytolytische Enzyme zu secerniren.

Durch Extraction mit kaltem Wasser und Fällen mit Alkohol erhielten sie das Enzym in trockenem Zustande (aber nicht frei von Diastase), das nunmehr, wieder gelöst, im Stande ist, Gerstenendospermzellwände aufzulösen. Das Extract wird beim Kochen unwirksam; bei 60° verliert es seine cytohydrolytische Fähigkeit, ohne die diastatische einzubüssen, die erst bei 70° verloren geht. Das Enzym wirkt am besten in schwach saurer, besonders essigsaurer und ameisensaurer Lösung. Seine chemische Wirksamkeit ist noch sehr ungenügend untersucht, bestimmte Abbauproducte (Zucker?) sind noch nicht dargestellt.

Es wirkt auch auf einige andere Zellwandstoffe, ist bei vielen dagegen wirkungslos, so dass man verschiedene Stoffe in den Zellwänden annehmen muss.

Es bildet sich nur, wenn die Nährstoffe in den Zellen sich vermindern, wie dies ja auch für andere Pflanzenenzyme nachgewiesen ist (z. B. die Invertase bei Aspergillus, s. d.). Auch Beyerinck[1]) nimmt eine enzymatische Lösung der Reservecellulose durch ein besonderes Ferment an. Er beobachtete, dass diese noch vor ihrer Lösung in einen Körper umgewandelt wird, der die blaue Jodreaction giebt.

Newcombe[2]) fand eine Cellulase in den Keimpflanzen der Dattel, der Gerste und der weissen Lupine, die in Auszügen wirksam waren; sehr schwache Wirkung auch bei Erbse und Buchweizen. Die Zellwände werden erst durchscheinend und schmelzen schliesslich ein. Die einzelnen Extracte verhielten sich gegen Stärke und Cellulose so verschieden, dass man daraus die Existenz mehrerer specifischer Enzyme erschliessen kann. Besonders zeigte es sich, dass die Cytase aus Dattelendosperm zwar stark auf Cellulose, auf Stärke aber viel schwächer als das Enzym aus den Cotyledonen der Dattel wirkt.

Reinitzer[3]) wendet sich andererseits gegen die Annahme einer specifischen „Cytase", speciell bei der Gerste. Brown und Morris

1) Beyerinck, Centr. f. Bact. (2.) 1895. 239.
2) Newcombe, Ann. of Bot. XIII. 49. (1899).
3) Reinitzer, Z. phys. Ch. XXIII. 175.

hatten die Unangreifbarkeit vieler Zellwände durch ihr Enzym hauptsächlich durch Verholzung dieser Zellen erklärt; Reinitzer weist nach, dass davon durchaus nicht immer die Rede sein kann. Er führt vielmehr aus, dass die Zellwände der Gerste zum grossen Theil aus sehr leicht hydrolysirbaren Hemicellulosen bestehen, die schon durch 0,1 proc. Salzsäure gelöst werden; nur diese kann das Enzym angreifen, während es andere Hemicellulosen gar nicht verändert; während ferner reine Cellulose von Luftmalzauszug nicht tangirt wird, werden diese besonders leicht hydrolysirbaren Hemicellulosen durch Diastase angegriffen, eine Fähigkeit, die allerdings der durch Erwärmen auf 60° geschwächten Diastase nicht mehr in vollem Maasse zukommt. Andere Hemicellulosen sind aber gegen Diastase beständig, und für diese giebt Reinitzer die Möglichkeit eines specifischen Enzyms, einer Cellulase, zu, die er aber speciell für die keimende Gerste durchaus nicht anerkennt.

Auch Grüss[1]) vertritt den Standpunkt, dass es Diastase ist, die die Zellwände löst; er hat diesen Vorgang bei der Dattel mikroskopisch beobachtet, indem er feine Schnitte in Glycerin sehr lange liegen liess und die Fäulniss durch Chloroform verhütete. Er nennt die Auflösung „Allöolyse“. Es entstehen dabei lösliche Producte, vermutlich Mannose.

Auch Malzdiastase sowie Penicilliumdiastase sollen ähnliche Einwirkung auf die Reservecellulose haben (Grüss[2])).

Dem von Wiesner[3]) in einigen Pflanzen aufgefundenen „Gummiferment“, das Cellulose in Gummi oder Schleim verwandeln soll, ist von Reinitzer[4]) diese Eigenschaft abgesprochen und es für ein einfach diastatisches Ferment erklärt worden.

Ebenfalls viel discutirt ist die Frage nach dem Vorkommen solcher Cytasen in holzzerstörenden Pilzen und ähnlichen Parasiten. Ihre Thätigkeit ist histologisch und chemisch genau untersucht[5]); aber die Frage nach dem Enzym harrt ihrer definitiven Lösung.

Indessen scheinen Versuche von Kohnstamm[6]) an nach Buchnerschem Verfahren hergestellten Presssäften von Merulius lacrymans,

1) Grüss, Ber. d. d. botan. Ges. XII. 1894. Sitzungsberichte S. (60).
2) Grüss, Festschr. f. Schwendener. Berlin 1899. 184.
3) Wiesner, Sitzb. Wiener Acad. 92. 1. 40 (1886).
4) Reinitzer, Z. phys. Ch. XIV. 453.
5) s. u. A. Hartig, Die Zersetzungserscheing. des Holzes. Berlin 1878; ferner: Der echte Hausschwamm. Berlin 1885. s. a. Wortmann, Biol. Centralbl. III. 265.
6) Kohnstamm, Amylolyt. etc. Fermente in holzbewohn. Pilzen. Diss. Erlangen 1900.

dem Hausschwamm, die Existenz eines echten celluloselösenden Enzyms zur Evidenz erhoben zu haben. Er fand ähnliche Einwirkungen, wie sie Hartig (l. c.) durch den lebenden Pilz beobachtet hatte, nach 50stündiger Einwirkung des Presssaftes auf Blätter von Elodea, nämlich Corrosionen in Form grosser, schmaler, langgestreckter Tüpfel, die die inneren Wände des Blattes leiterförmig quergestreift und gewellt erscheinen lassen.

Andere Zerstörungsvorgänge sind an anderen Parasiten beobachtet.

De Bary[1]) fand, dass gewisse Peziza-Arten mit ihrem Mycel die Mittellamellen der befallenen Pflanzen durchbrachen und auflösten, dass der ausgepresste Saft dieser erkrankten Pflanzen Cellulose löst, und dass diese Fähigkeit beim Kochen verloren geht.

Analog erhielt Marshall Ward[2]) bei einem parasitischen Pilz der Lilie, einer Botrytisart, dieselben Auflösungserscheinungen wie bei der Peziza; ausserdem aber secernirten die in Nährlösung gezüchteten Pilze granulaenthaltende Secrete, die Cellulose allmählich auflösten. Das Enzym konnte durch Alkoholfällung in trockener Form erhalten werden. Aehnlich sind die Befunde von Kean[3]) an Rhizopus nigricans und von Manabu Miyoshi[4]) an Botrytis cinerea und Penicillium glaucum. Aus Aspergillus Oryzae hat Newcombe[5]) ein cytolytisches Enzym gewonnen, das in Wasserextracten energisch auf Cellulose, viel schwächer auf Stärke wirkte.

Hadromase. Czapek[6]) nimmt für die Zerstörung des Holzes durch Pilze, z. B. den gewöhnlichen Hausschwamm, Merulius lacrymans, an, dass zunächst der im Holz vorhandene „Aether" der Cellulose, die Verbindung mit dem Hadromal, in seine Bestandtheile: Cellulose und Hadromal gespalten wird, und dass dann die Cytase weiterhin die Spaltung der Cellulose in lösliche Producte vollzieht. Aehnlich wirken Trametes, Polyporus, Agaricus, Pleurotus und Armillaria. Es gelang Czapek, das wirksame Enzym aus Pleurotus pulmonarius und Merulius lacrymans durch Auspressen und Fällen mit Alkohol in fester, wirksam gebliebener Form zu erhalten. Er nennt dieses Enzym Hadromase und hält es für verschieden von der Cytase, die ebenfalls ausser Diastase ein

1) de Bary, Botan. Ztg. **1886**. 415.
2) Marshall Ward, Annals of botany. II. (1888).
3) Kean, cit. n. Green-Windisch S. 95.
4) Manabu Miyoshi, Jahrb. wissensch. Bot. 28. 227 (1895); s. a. Ward, Ann. of bot. XII. 565 (1898).
5) Newcombe, Annals of bot. XIII. 49 (1899).
6) Czapek, Ber. d. deutsch. bot. Ges. XXVII. 141 (1899).

Product der holzzerstörenden Pilze ist. Er möchte sie in die Reihe der glucosidspaltenden Enzyme stellen. Bis ihre chemische Wirkung genauer erforscht ist, halte ich es für zweckmässiger, sie aus praktischen Gründen im engsten Anschluss an die Cytase zu behandeln, ohne damit irgendwie vorgreifen zu wollen.

Auch Bacterien sondern zellwandlösende Enzyme ab, z. B. Bacillus amylobacter (de Bary[1]), Bac. mesentericus vulgatus (Vignal[2]) u. A.

Den Bacterien im Allgemeinen schreibt Nägeli[3] die Fähigkeit zu, „Cellulose in Traubenzucker umzuwandeln".

Durch Alkoholfällung erhielt aus faulendem Rübensaft van Senus[4] eine Cytase.

Cellulasen bei Thieren. Die meisten Versuche, bei Säugethieren Celluloseenzyme aufzufinden, sind negativ ausgefallen (z. B. Duclaux[5], Pregl[6]).

Nur Mac Gillawry[7] will aus dem Proc. vermiformis von Kaninchen ein Cellulose verdauendes Glycerinextract gewonnen haben und konnte durch dieses Extract eine Kupferoxyd reducirende Substanz aus Cellulose erhalten; Schmulewitsch[8] schreibt dem Pankreas celluloselösende Wirkungen zu.

Brown[9] fand eine Cellulase im Darm von körnerfressenden Thieren.

Häufiger scheinen sie bei niederen Thieren zu sein.

Bei Fischen fand Knauthe[10], dass chloroformhaltige Extracte des Hepatopankreas des Karpfens sehr energisch auf Cellulose, z. B. Filtrirpapier und die Früchte von Symphoricarpus racemosus (Schneebeere) auflösend wirken.

Biedermann und Moritz[11] gelang es im Secret der Mitteldarmdrüse („Leber") der Schnecken (z. B. Helix pomatia) eine sehr kräftig wirkende Cellulase aufzufinden, die sowohl Dattelendosperm, als auch noch widerstandsfähigere Cellulosen in weniger als

---

1) de Bary, Vorlesg. üb. Bacterien. Leipzig 1866. S. 65.
2) Vignal cit. n. Green, Ann. of botany. VII. 120.
3) Nägeli, Die niederen Pilze. 1882. S. 12.
4) van Senus, cit. n. Flügge, Mikroorganismen. 1896. S. 207.
5) Duclaux, C. R. 94. 976 (1882).
6) Pregl, Pflüg. Arch. 61. 282.
7) Mac Gillawry, Archives néerland. XI. 394 (1876).
8) Schmulewitsch, Bull. Acad. St. Petersb. 1879. 549.
9) Brown, Journ. Chem. Soc. 61. 352 (1892).
10) Knauthe, Zeitschr. f. Fischerei. V. 189 (1897).
11) Biedermann und Moritz, Pflüg. Arch.. 73. 236 (1898).

einer Stunde zur beginnenden Auflösung bringt. Ein davon etwas verschiedenes Enzym fanden dieselben im „Leber"secret des Flusskrebses (l. c. S. 256). Beide Fermente nehmen beim Verdünnen sehr schnell an Wirksamkeit ab. Extracte der Leber erwiesen sich als unwirksam. Das Enzym lieferte einfache Kohlehydrate und zwar aus Rübencellulose Glucose (?) und eine Pentose; aus Dattelkernen Mannose und keine Pentose. Aus der Reservecellulose der Kaffeebohne wurden Mannose und Galactose erhalten, kurzum die Spaltung verlief analog der Spaltung durch verdünnte Mineralsäuren.

In gewissem Zusammenhange mit der Celluloselösung durch Enzyme steht die Frage nach den Veränderungen der Cellulose im Darmkanal und ihrer physiologischen Ausnutzung. Es scheint indessen, als ob es sich hier fast ausschliesslich um Fäulnisserscheinungen, nicht um enzymatische Spaltungen handelt. Ich begnüge mich deshalb, auf die ausgezeichneten Arbeiten von Tappeiner[1]) und die Litteraturübersicht bei Biedermann und Moritz[2]) zu verweisen.

Die Cellulosegährung ist dann besonders von Omelianski[3]) genauer untersucht worden.

Inulinase. Ein Enzym, das ein in manchen pflanzlichen Organen vorkommendes Kohlehydrat, das Inulin, in Fructose spaltet, vermuthete zuerst Dragendorff[4]), der aber das Ferment nicht finden konnte. Dann fand es Green[5]) in Helianthus tuberosus. Bourquelot[6]) entdeckte es in einigen Pilzen.

Das Inulin tritt dort, wo es vorkommt, an die Stelle der sonst vorhandenen Reservestärke, z. B. in Georginen, in Artischocken etc. Es liefert bei der Spaltung d-Fructose. Malz enthält keine Inulinase. Die Inulinase entsteht in diesen Organen bei der Keimung, doch ist die histologische Sichtbarmachung ihrer Secretion ungleich der Pflanzendiastase noch nicht gelungen. Sie greift Stärke nicht an, wird durch Kochen zerstört und ist äusserst empfindlich gegen Säuren.

Sie ist in den Pflanzen als Zymogen enthalten (Green[7])).

Eine neuere Untersuchung der Inulinase liegt von Dean[8]) vor, der sie aus Culturen von Aspergillus niger und Penicillium glaucum

1) Tappeiner, Z. f. Biol. XX. 52 (1884).
2) Biedermann und Moritz, Pflüg. Arch. 73. 291 (1898).
3) Omelianski, Arch. d. scienc. biolog. IX. (1902).
4) Dragendorff, Materialien zu einer Monographie des Inulins. St. Petersb. 1870, cit. n. Wortmann, Biol. Ctbl. III. S. 266.
5) Green, Annals of botany. I. 223.
6) Bourquelot, Bull. soc. Mycol. X. 235; s. a. ibid. IX. 230. S.-A.
7) Green, Annals of botany. VII. 122.
8) Dean, Botanic. Gazette 35. Jan. 1903. S.-A.

auf inulinhaltigen Nährböden erhielt. Das Enzym geht aber wie die Hefenenzyme nicht spontan in die Flüssigkeit über, sondern ist ein Endoenzym. Sie wirkt am besten bei 55°. Sehr empfindlich ist sie gegen Säuren; schon 0,01 Norm.-H_2SO_4 zerstört sie, das Optimum liegt bei 0,0001 Norm. Alkali wirkt aber schon bei 0,0001 Norm. schädlich.

Seminase. In den keimenden Samen von Ceratonia siliqua, dem Johannisbrodbaum, fand zuerst Effront[1]) ein neues Enzym, das das Carubin dieses Samens spaltet und deshalb von ihm als Carubinase bezeichnet wurde.

Bourquelot und Hérissey[2]) beschäftigten sich näher mit dem Ferment und zeigten, dass es im Pflanzenreiche weit verbreitet ist, u. a. in Luzernen (Medicago), in Trigonella etc., aber auch im Malz und käuflichen Diastasepräparaten vorkommt. Es ist aber von der Diastase verschieden, da die Mengenverhältnisse beider Fermente sehr wechselnd sind.

Die Function der Seminase ist, das Mannogalactan der Samen, ein Kohlehydrat, das man als „Horneiweiss" bezeichnet, in Mannose und Galactose zu spalten[3]).

Sie wirkt am besten bei 35—40° in schwachsaurer Lösung und ist durch Alkohol fällbar.

Pectinase. Unter diesem Namen beschreibt Bourquelot[4]) ein im gekeimten Malz vorkommendes Enzym, das im Stande ist, die in den Pflanzen vorkommenden kohlehydratähnlichen Pectinstoffe in reducirende Zucker zu spalten, auch dann, wenn die Pectinstoffe durch das eigenthümliche mit ihnen zugleich vorkommende Enzym, die Pectase (s. d.) coagulirt sind, während umgekehrt nach der Pectinasewirkung die Pectase ihre Wirkung nicht mehr entfaltet. Sie findet sich zusammen mit Diastase im Malz, fehlt aber unter anderem im Speichel und in Aspergillus, ist also von der Diastase verschieden.

Sie ist sehr empfindlich auch schon gegen eine geringe Acidität der Medien, die also durch Zusatz von Kreide abgeschwächt werden muss, um ihre Wirkung zu erkennen.

---

1) Effront, Compt. Rend. 125. 116 (1897).

2) Bourquelot u. Hérissey, Compt. Rend. 129. 228. 391 (1899); 130. 42. 340. 731 (1900); Journ. Pharm. Chim. (6) XI. 104 (1900); Soc. Biol. 52. 114 (1900).

3) Ueber diese Kohlehydrate s. Goret, Étude de quelques albumens cornés. Thèse de Paris 1901 und Champenois, Ét. d. hydrates de carbones de réserve. Thèse de Paris 1902.

4) Bourquelot, Journ. Pharm. Chim. 1899. S.-A., s a. Bourquelot und Hérissey, Soc. Biol. 50. 777 (1898).

Gelase. Ein specifisches Enzym, das Agar-Agar, resp. dessen Hauptbestandtheil Gelose spaltet, ist von Gran[1]) beschrieben worden Die Gelose ist ein höheres Kohlehydrat, das mit Jod eine violette Färbung giebt.

In Meerwasser fand nun Gran ein Bacterium (Bac. gelaticus), das dieses Kohlehydrat hydrolysirt. Diese Wirkung schreibt er einem specifischen Enzym, der Gelase zu. Es bilden sich dabei reducirende Substanzen und die Jodreaction verschwindet.

1) Gran, Bergen's Museum, Aarbog 1902. No. 2; Bioch. Centralbl. I. Heft 5; Nr. 399 (1903).

Achtzehntes Capitel.

Die Fermente der Disacharide.

Maltase.

Dass neben dem Hauptproduct der diastatischen Fermentation, der Maltose, auch Traubenzucker entsteht, fanden Musculus und Gruber[1]); v. Mering[2]) machte die wichtige Entdeckung, dass er kein primäres Product ist. Obzwar nun die Maltose von Hefe vergohren wird, nahm er doch an, dass sie vor der alkoholischen Gährung erst in Glucose gespalten wird; er konnte diese allerdings bei dem Gährungsprocess nicht fassen.

Cuisinier[3]) liess sich dann im Jahre 1885 ein Verfahren patentiren, um zuckerreiches Brod, das einen Zucker, Cerealose, enthalten sollte, darzustellen. Er und sein Schüler Géduld[4]) fanden dann, dass hier Glucose durch ein besonderes Enzym gebildet wird, das sie Glucase nannten.

Fast gleichzeitig führte den Nachweis, dass wirklich bei jeder Gährung der Maltose, auch der Milchsäuregährung, erst Glucose entsteht, Bourquelot[5]), indem er die alkoholisirende Kraft der Hefe lähmte (durch Chloroform); dabei blieb die maltosespaltende bestehen. Er und Hamburger[6]) nahmen für diese Spaltung ein besonderes Enzym an, das letzterer auch Glucase nannte. E. Fischer[7]) gelang es dann, die Frage definitiv zu lösen mit Hilfe der Osazonreaction, wodurch er die entstehende Glucose direct nachweisen konnte.

1) Musculus und Gruber, Z. phys. Ch. II. 182.

2) v. Mering, Z. phys. Ch. V. 187.

3) Cuisinier, wörtlich citirt bei Beyerinck, C. f. Bact. (2.) I. 329 (1895). s. a. Chem. Ctbl. 1886. 614.

4) Géduld, Wochenschr. f. Brauerei. VIII. 545 (1891).

5) Bourquelot, Journal de l'anat. et phys. 22. 162 (1886). Journal de pharm. 1883. 420.

6) Hamburger, Pflüg. Arch. 60. 575.

7) E. Fischer, Chem. Ber. 28. 1433 (1895).

Es existirt also ein specifisches Enzym, das die Maltose in 2 Molecüle Glucose spaltet und am besten mit dem Namen Maltase[1]) bezeichnet wird. Ihre synthetische Wirkung (Rückbildung von Maltose aus Glucose) haben wir im „Allg. Theil" (S. 52) besprochen.

Die Maltase ist sowohl im Pflanzenreich als im Thierreich weit verbreitet und meist eine Begleiterin der diastatischen Fermente (s. d.); vor Allem wichtig ist ihr Vorkommen im Malzextract. Beyerinck (l. c.) hat ein wirksames Präparat aus enthülstem und entöltem Mais durch Extraction mit schwacher Weinsäure (0,1:250,0) und etwas Alkohol und Fällen mit stärkerem Alkohol erhalten.

Wie bei den Diastasen, so scheinen auch bei den Maltasen kleine Differenzen vorzukommen, so dass E. Fischer[2]) eine Mehrzahl von Maltasen annimmt. Besonders scheint zwischen Malzmaltase und Hefenmaltase ein Unterschied zu bestehen. Erstere ist gegen Alkohol einigermassen beständig, letztere wird sehr bald zerstört. Auch gegen Wärme ist ihre Empfindlichkeit verschieden.

Von besonderer Wichtigkeit ist ihr Vorkommen in den Kryptogamen. Bourquelot[3]) und seine Schüler haben sie in vielen Pilzen gefunden.

Die Hefepilze enthalten fast alle Maltase. Nur ist sie bei ihnen stets fester gebunden als die Diastase, so dass frische, lebende Hefe an Wasserinfuse keine Maltase abgiebt. Man muss die Hefe vorher trocknen (s. u.).

In der Takadiastase, der Hefe von Aspergillus Oryzae (s. S. 223) fanden Kellner, Mori und Nagaoka[4]) eine Maltase neben Invertase. Damit stimmt die Angabe von Osborne und Zobel[5]) überein, dass Takadiastase das Glycogen bis zu Glucose spaltet. Ueberhaupt ist in den Wasserauszügen getrockneter Hefen die Maltase stets von Invertase begleitet mit Ausnahme von Sacharomyces octosporus[6]), der keine Invertase enthält. Maltase fehlt allen Milchzuckerhefen, sowie Kefirkörnern, die an ihrer Stelle Lactase führen; ferner dem Sacharomyces Marxianus[7]) der nur Invertase enthält, dem S. apiculatus, der beide entbehrt, und noch einigen anderen Sacharomyceten.

1) Bourquelot, Journ. pharm. chim. August 1895. S.-A.
2) Fischer, Z. phys. Ch. 26. 74 (1898).
3) Bourquelot u. A., Bull. soc. mycol. IX. 230. S.-A.; B. und Herissey, id. X. 235. S.-A.
4) Kellner, Mori und Nagaoka, Z. phys. Ch. XIV. 305.
5) Osborne u. Zobel, Journ. of phys. 29. 1 (1903).
6) E. Fischer, l. c. S. 77.
7) E. Fischer und Lindner, Chem. Ber. 28. 3037 (1895).

Sie wird nach der Vorschrift von E. Fischer (l. c.) aus mit Wasser ausgewaschener und scharf getrockneter Bierhefe durch Digestion mit Wasser bei 35° gewonnen. Frische Hefe giebt an Wasser keine Maltase ab, so dass normaler Weise die der Gährung vorhergehende Hydrolyse innerhalb der Zelle vor sich gehen muss.

Hill[1]) hat sie aus getrockneter Hefe mit 0,1 proc. Natronlauge und Fällen mit Alkohol isolirt. Das Optimum ihrer Wirkung liegt bei 40°, bei 55° wird sie zerstört (Lintner und Kröber[2])).

Sie hält sich in wässriger Lösung nur wenige Tage. Hill konnte sie indessen in sterilisirten und gut verschlossenen Flaschen mehrere Monate ohne wesentliche Abschwächung aufbewahren. Durch Alkohol wird sie anscheinend zerstört, desgleichen wird sie durch Chloroform geschädigt (Lintner und Kröber[2]), s. a. E. Fischer, l. c. S. 75).

Herissey[3]) giebt dagegen an, dass die Aspergillusmaltase gegen Chloroform unempfindlich ist.

Die Wirksamkeit dieses und der übrigen die Disacharide spaltenden Enzyme kann man am besten studiren, wenn man die vitale Zellthätigkeit der Hefen. die zu Alkoholgährung führen würde, durch Zusatz von etwa 1 Proc. Toluol lähmt (E. Fischer l. c. S. 75), nicht mit Chloroform.

Maltase scheint auch die Fähigkeit zu haben, wenn auch wohl nicht Stärke, so doch Dextrine zu spalten; wenigstens schreiben die meisten Untersucher der Maltase die Fähigkeit zu, bei der Nachgährung die Dextrine weiter abzubauen, da sich in fertigen Bieren zwar beträchtliche Zuckermengen, aber sehr wenig Dextrine vorfinden.

Thierische Maltasen. Dass sich bei der Verzuckerung von Stärke durch thierische Flüssigkeiten (Speichel, Darmsaft, Pankreas) ausser Maltose auch Traubenzucker bildet, wurde durch v. Mering und Musculus[4]), Külz[5]) u. A. bekannt. v. Mering[6]) zeigte, dass Maltose durch Speichel und Pankreas in Glucose gespalten wird. Bourquelot[7]) und Hamburger[8]) wiesen auf das Vorhandensein eines specifischen,

---

1) Hill, Journ. Chem. Soc. 73. 634 (1898).
2) Lintner und Kröber, Chem. Ber. 28. 1050 (1895).
3) Herissey, Soc. Biol. 48. 915 (1896).
4) v. Mering und Musculus, Z. phys. Ch. II. 403.
5) Külz, Pflüg. Arch. 24. 81 (1881); Külz und Vogel, Z. f. Biol. 31. 108 (1894).
6) v. Mering, Z. phys. Ch. V. 190.
7) Bourquelot, Journ. de l'anat. et phys. 22. 200 (1886).
8) Hamburger, Pflüg. Arch. 60. 575; s. a. Röhmann, Chem. Ber. 27. 3252 (1894).

die Maltose in Glucose verwandelnde Enzyms hin. Shore und Tebb[1]) untersuchten die maltosespaltende Wirkung vieler getrockneter Gewebe. Dünndarm vom Schwein wirkte am stärksten. Auch in Leber, Nieren, etc. fand Tebb[2]) Maltase. Bourquelot[3]) fand im Dünndarm von Kaninchen mehr Maltase als im Pankreas und zwar hauptsächlich in der Mitte des Darms.

Im Blut fanden Maltase Dubourg[4]), Bial (l. c.), Gley und Bourquelot[5]), Hamburger (l. c.), Tebb[2]); Fischer und Niebel[6]) wiesen ihr Vorhandensein im Serum zahlreicher Thiere nach.

Das Blut ist nach Hamburger reicher an Maltase, als das Pankreassecret und Speichel.

Im Blut der Frösche findet sich ein dextrinspaltendes Ferment (Maltase?) nur während des Frühjahrs und Sommers, nicht aber im Winter. In dieser Jahreszeit geht in die Venen eingespritztes Dextrin unverändert in den Harn über.[7])

Indessen ist durch alle diese Untersuchungen am Serum nichts weiter gezeigt worden, als dass eben Stärke bis zur Glucose abgebaut wird, also ein indirecter Schluss auf die Anwesenheit von Maltase. Ein wirklicher Nachweis eines eigenen, maltosespaltenden Ferments im Blut ist bisher nicht einwandsfrei gelungen, da eine Trennung von der Diastase anscheinend nicht möglich ist. Am ehesten erfüllen diese Forderung noch die Versuche von Bial[8]), der durch Alkoholwirkung die Maltase so weit schädigen konnte, dass ihre Wirkung verschwand und das Serum nur noch diastatische Wirkung ausübte. Andererseits zeigte er[9]), dass unverändertes Serum die Fähigkeit besitzt, zugesetzte Maltose völlig weiter zu hydrolysiren.

Invertase, Sucrase.

Dass die Hefe Rohrzucker vergährt, ist eine längst bekannte Thatsache. Dumas und Boullay[10]) hatten 1828 gezeigt, dass der Rohrzucker vor der Gährung erst ein Molecül Wasser aufnehmen

1) Shore und Tebb, Journ. of physiol. XIII. S. XIX.
2) Tebb, Journ. of physiol. XV. 421.
3) Bourquelot, C. R. 97. 1000 (1883).
4) Dubourg, Sur l'amylase de l'urine. Thèse. Paris 1889, cit. n.
5) Gley und Bourquelot, Soc. Biol. 47. 247 (1895).
6) Fischer und Niebel, Sitzb. Berliner Acad. 1896. V. S.-A.
7) cit. n. Schützenberger, l. c. S. 255. Anm.
8) Bial, Pflüg. Arch. 54. 72 (1893).
9) Bial, Pflüg. Arch. 53. 156 (1893).
10) Dumas und Boullay, Ann. Chim. Phys. 37. 45.

müsse. Dubrunfaut[1]) erkannte (1830), dass er dabei in einen unkrystallisirbaren Zucker übergeht. Persoz[1]) erkannte die Linksdrehung des Invertzuckers, Biot[1]) die Invertirung durch Säuren.

Man hat dann auch schon frühzeitig erkannt, dass die Umwandlung von Rohrzucker nicht zu der eigentlichen Thätigkeit der Hefe gehört, sondern dass hier ein besonderes Ferment mitwirkt.

Der Rohrzucker wird durch dies Enzym gespalten in ein Molecül rechtsdrehender d-Glucose und ein Molecül linksdrehender d-Fructose. Da nun die Fructose stärker links dreht als die Glusose rechts, so dreht das Gemisch beider Zucker (zu gleichen Theilen) links und wird deshalb als Invertzucker bezeichnet.

Baudrimont und Dubrunfaut[2]) machten nach vorhergehenden gelegentlichen Aeusserungen von Döbereiner und Mitscherlich auf dies Enzym der Hefen aufmerksam. Berthelot[3]) stellte es zuerst durch Alkoholfällung in trockenem Zustande dar und nannte es „ferment inversif", Béchamp[4]) „Zymase". Bernard wies auf seine Anwesenheit im Darmsaft hin.

Invertase wurde nach verschiedenen Verfahren dargestellt und näher untersucht von Liebig[5]) Berthelot, Donath[6]) u. A. Hoppe-Seyler[7]) versuchte ihre Isolirung durch Extraction mit Wasser, nachdem er die lebenden Zellen mit Aether getötet hatte. Barth[8]) unternahm dasselbe nach dem Vorgang von Salkowski[9]) durch Erhitzen der trockenen Hefe auf 105° zu erreichen und hat dann die Eigenschaften der Invertase genauer untersucht, die er aus dieser trockenen, sterilen Hefe durch Extraction mit Wasser und Fällung mit Alkohol erhielt. Mit Glycerinextraction erhielt Gunning[10]); aus der durch Stehenlassen gepresster Hefe (1—2 Monate lang) gewonnenen „flüssigen" Hefe in reichlicher Menge O'Sullivan und Tompson[11]) Invertase. Sehr wirksame Lösungen erhält man aus Reinculturen von Aspergillus niger (s. u.). In einer Anzahl anderer Hefen fand In-

1) cit. n. Pasteur, Die Alkoholgährg., dtsch. v. Griessmayer. Stuttgart 1878. (II. Aufl.). S. 8.
2) Baudrimont und Dubrunfaut, cit. n. Quevenne, J. pr. Ch. XIV. 334.
3) Berthelot, C. R. 51. 980 (1860).
4) cit. n. Schützenberger, l. c. S. 240.
5) Liebig, seine Annalen. 153. 1. 137.
6) Donath, Chem. Ber. VIII. 795 (1875).
7) Hoppe-Seyler, ibid. IV. 810 (1871).
8) Barth, ibid. XI. 474; vgl. dazu auch Nägeli, Münch. Acad. 1878. S. 178.
9) Salkowski, C. med. Wiss. 1877. 606.
10) Gunning, Chem. Ber. V. 821 (1872).
11) O'Sullivan und Tompson, Journ. chem. Soc. 57. 834 (1890).

vertase Kalanthar[1]), in Mucorhefen Fitz[2]). Issaew[3]) gewinnt sie aus Hefe, die mittelst Rohrzucker plasmolysirt wird.

Ihre Reindarstellung wurde von Lea[4]) und Wróblewski[5]) vergeblich versucht.

Sie wurde dann weiterhin von Osborne[6]) genau untersucht. Er lies die Hefe mit Alkohol stehen, extrahirte mit Chloroformwasser, und reinigte die Invertase weiterhin durch Ausfällen mit Bleiacetat und Dialyse. Sie enthielt dann nur noch wenig Asche. Sie ist keine Eiweisssubstanz, aber noch kohlehydrathaltig. Aus dem Kohlehydrat lässt sich Mannose darstellen (Kölle[7])). Die Invertase ist nach Salkowski[8]) stets mit dem löslichen Gummi der Hefe verunreinigt. Dieses Kohlehydrat ist nach Oshima[9]) ein Methylpentosan, das bei der Spaltung neben Mannose wahrscheinlich Fucose liefert. Durch Kupferacetat gelang es ihm, sehr geringe Mengen kohlehydratfreier Invertase zu erhalten. Nach Hartley[10]) lässt sie sich auch spectroskopisch von Eiweisssubstanzen unterscheiden.

Die Invertase ist analog der Maltase aus gesunden frischen Hefezellen nicht oder doch nur in geringer Menge zu isoliren[11]). Als Mittel, deren man sich bedienen muss, um den Widerstand der Zellen zu brechen und so das Enzym in das Wasserextract zu bekommen, benutzt man Alkohol (Lea[12])), Chloroform, Toluol (Bourquelot[13]), E. Fischer[14])), oder man zerstört die Zellwand durch Zerreiben mit Glaspulver (E. Fischer) oder langsame Maceration (Pottevin und Napias[15])). Auch trockenes Erhitzen führt zum Ziel.

Die einzelnen Hefeinvertasen unterscheiden sich durch gewisse Eigenschaften, besonders durch ihre Empfindlichkeit gegen störende Einflüsse und durch ihre Optimaltemperatur. Charakteristisch für die physiologische Bedeutung der Enzyme ist, dass die Invertase der

1) Kalanthar, Z. phys. Ch. **26**. 89 (1898).
2) Fitz, Chem. Ber. VI. 48 (1873); IX. 1352 (1876).
3) Issaew, Z. ges. Brauw. **23**. 796 (1900).
4) Lea, Journal of Physiology. VI (1885).
5) Wróblewski, Chem. Ber. **31**. 1134 (1898).
6) Osborne, Z. phys. Ch. **28**. 399 (1899).
7) Kölle, Z. phys. Ch. **29**. 429 (1900).
8) Hartley, Journ. Chem. Soc. **51**. 58 (1887).
9) Salkowski, Z. phys. Ch. **31**. 306 (1901).
10) Oshima, Z. phys. Ch. **36**. 42 (1902).
11) O'Sullivan, Journ. Chem. Soc. **61**. 593 (1892).
12) Lea, Journ. of phys. VI (1885).
13) Bourquelot, Soc. Biol. **48**. 205 (1896).
14) E. Fischer, Z. phys. Ch. **26**. 75 (1898).
15) Pottevin und Napias, Soc. Biol. **50**. 237 (1898)

obergährigen Hefe ihre Optimaltemperatur um 25° höher hat als die der untergährigen. Hier liegt eine typische „Anpassung" der Enzyme vor.

Invertase enthalten fast alle Hefen; die meisten neben Maltase, die Milchzuckerhefen neben Lactase. Einige, so z. B. Sacharomyces Marxianus, enthalten nur Invertase (E. Fischer, l. c.).

Dagegen fehlt die Invertase einigen Hefen, so z. B. dem Sacharomyces apiculatus[1]).

In völlig abgeklärtem Wein ist sie nach Müller-Thurgau[1]) nicht mehr vorhanden; eine dann noch eintretende Inversion ist nur auf Rechnung der Weinsäure zu stellen, in jüngeren Weinen ist sie dagegen nachweisbar.

Eine eigenartige Anschauung über die Natur der Invertase vertreten O'Sullivan und Tompson.[2]) Sie nehmen an, dass Invertase in eine homologe Reihe von sieben verschiedenen Invertanen zerfällt, die sich durch ihre Moleculargrösse, sowie durch verschiedenen Stickstoffgehalt und verschiedenes Drehungsvermögen unterscheiden. Das α-Invertan ist scheinbar identisch mit dem Hefe-Albuminoid und unlöslich in Wasser; das eigentliche Enzym ist das β-Invertan, das zweite in der Reihe. Alle sind complexe Eiweisskörper und rechtsdrehend. Ein constanter Bestandtheil des Complexes ist das letzte der Reihe, das η-Invertan, das auf 1 Theil Albuminoid 18 Theile Kohlehydrat enthält. Genaueres muss im Original nachgesehen werden. Die Arbeit bietet auch sonst eine Fülle interessanter Details über die Invertase.

Ausser Rohrzucker spaltet nach Bourquelot[3]) die Invertase auch die Gentianose, ein Trisacharid aus Gentiana lutea, das aus 2 Mol. Glucose und 1 Mol. Fructose zusammengesetzt ist. Daraus wird durch Invertase die Fructose abgespalten, so dass eine Glucobiose, die Gentiobiose zurückbleibt, die nicht weiter angegriffen wird. Ferner spaltet Invertase oder ein eigenes Ferment auch die Melitriose, ein Trisacharid des Rübenzuckers, in Fructose und Melibiose (E. Fischer, l. c.).

Die Invertase ist in wässriger Lösung wohl das empfindlichste aller Enzyme. Sehr verdünnte Säuren bewirken zwar hier, wie überall, eine Beschleunigung der Fermentwirkung, doch schlägt diese bei schon sehr geringer Säuremenge in das Gegentheil um (Fernbach[4]). Besonders Oxalsäure ist schädlich.

Sie wird schon bei ziemlich niederer Temperatur in wässeriger Lösung unwirksam, bei längerer Einwirkung schon bei 45—50°

---

1) Müller-Thurgau, Landwirtsch. Jahrb. 1885. 795.
2) O'Sullivan und Tompson, Journ. Chem. Soc. 57. 834 (1890).
3) Bourquelot, Journ. pharm. chim. (6.) XVI. 578 (1902).
4) Fernbach, Ann. Inst. Pasteur IV. 1 (1890).

(A. Mayer[1]). Nach Kjeldahl[2]) wird sie bei 70° schnell zerstört, ihr Wirkungsoptimum liegt bei 53—56°; dabei wird sie natürlich in Rohrzuckerlösungen untersucht.

Durch diesen wird sie also, wie alle Enzyme durch ihr Substrat, etwas geschützt (A. Mayer[1])). Nach Kjeldahl[2]) sind ferner Alkalien und Quecksilbersalze schädlich, Licht ist nach Mayer ohne Einfluss, ebenso Blausäure, nach Béchamps[3]) auch Borsäure. Pepsin in schwach sauerer Lösung zerstört sie (Falk[4])). Doch ist diese Schädigung nach Henri (l. c. s. u.) nur eine Inactivirung, die durch Neutralisirung wieder aufgehoben wird. Auch durch Alkohol wird sie geschädigt (A. Mayer[5])). Duclaux[6]) fand Sublimat wenig, Cyankalium stark hemmend.

Die **Geschwindigkeit der Invertasewirkung** ist mehrfach untersucht worden. Diese Arbeiten haben eine grosse Bedeutung für die Kinetik der Enzymwirkungen überhaupt erlangt. Die Invertasewirkung ist ein sehr einfacher Vorgang, der ganz analog von verdünnten Säuren vollzogen wird, also einer sehr einfachen katalytischen Reaction entspricht, um so mehr, als sie durchaus monomolecular, zum mindesten bei der Säurespaltung, verläuft, und deshalb die zu Beginn vorhandene Acidität auch am Schlusse, bei Einstellung des Gleichgewichts, noch ungeändert vorhanden ist. Dieser Gleichgewichtszustand ist nur abhängig von der relativen Concentration des Rohrzuckers; die Geschwindigkeit der Säureinversion folgt also der einfachen Formel

$$\frac{dx}{dt} = k(a - x)$$

die Integration ergiebt dann

$$k = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a - x},$$

die Inversion folgt also der logarithmischen Curve[7]).

Die ersten Untersucher nahmen nun auf Grund ihrer Messungen an, dass auch die Inversion durch das Enzym dieser Curve folgt. (O'Sullivan und Tompson[8])).

1) A. Mayer, Z. ges. Brauw. 1892. 86. Enzymologie. Heidelberg 1882. S. 23.

2) Kjeldahl, Z. ges. Brauw. 1881. 457.

3) Béchamps, C. R. 75. 337.

4) Falk, Du Bois Archiv f. Physiol. 1882. 187.

5) Mayer, Enzymologie. S. 13.

6) Duclaux, Ann. Past. XI. (1897).

7) Die vieles Wichtige bringende Arbeit von Henri, Lois générales des diastases. Paris 1903, konnte leider im Allg. Theil nicht mehr gebührend berücksichtigt werden, so dass ich an dieser Stelle im Hinblick darauf etwas weiter ausholen muss.

8) O'Sullivan und Tompson, Journ. Chem. Soc. 57. 834 (1890).

Dem entgegen hatte Tamman[1]) eine völlig abweichende Wirksamkeit der Invertase, die einem complicirten Gesetz folge, angenommen. Auch Duclaux[2]) schliesst auf ein gänzlich abweichendes Gesetz, da nach ihm die Invertasewirkung direct proportional der Zeit ist, unabhängig von der Concentration $\left(\frac{dx}{dt} = k\right)$. Doch gilt dies nur für die erste Zeit; später macht sich ein hemmender Einfluss der Spaltproducte geltend, so dass er schliesslich zu einer Formel $k = \frac{a}{t} \ln \frac{a}{a-x}$ gelangt, so dass die Menge des invertirten Zuckers in gleichen Zeiten absolut die gleiche sein sollte, unabhängig von der Concentration. Auch nach A. Brown[3]) folgt die Invertasewirkung nicht dem Massengesetz.

Henri (l. c.). unterwirft diese Arbeiten einer genauen Kritik. Die Unabhängigkeit von der Concentration gilt nur für mittlere, nicht für geringe Concentrationen; die Uebereinstimmung mit der logarithmischen Curve andererseits ist nur eine angenäherte: die Zahlen von O'Sullivan und Tompson selbst ergeben für k keine Constanz, sondern einen dauernd wachsenden Werth.

Auch die Theorie von Brown und Glendinning für die Diastase (s. dort), sowie einige andere werden als ungenügend und den Thatsachen widerstreitend zurückgewiesen.

Henri (l. c.) hat dann die ganze Frage neu aufgenommen, indem er alle Vorsichtsmassregeln aufs Strengste beobachtete. Er arbeitete mit derselben Enzymlösung binnen 24 Stunden, genau constanter Temperatur und Ausschaltung von Mikroben.

Er fand zunächst, dass k nicht constant ist, sondern dauernd mit der Zeit wächst.

Eine seiner Tabellen möge angeführt werden: Rohrzuckerlösung 0,5 normal, Temperatur 25°.

Minuten	Invertirter Antheil	$k \cdot 10^5$
26	0,061	105
115	0,316	143
182	0,487	159
311	0,713	174
373	0,789	174
511	0,892	181
630	0,932	185

Die Inversion folgt also nicht der logarithmischen Curve, sondern geht schneller.

1) Tamman, Z. physiol. Ch. XVI.
2) Duclaux, Ann. Past. XII. 96 (1898).
3) A. Brown, Journ. Chem. Soc. 1902. 373.

Bei den Versuchen, dieses Schnellerverlaufen einer empirischen Formel anzupassen, fand Henri eine andere Gleichung:

$$2\,k_1 = \frac{1}{t}\ln\frac{a+x}{a-x}.$$

Diese Gleichung stimmt in der That für jede Inversion durch das Enzym: $2\,k_1$ bleibt constant. Doch ermöglicht sie nicht, ein Gesetz aufzustellen, da sie rein empirisch ist.

Zur weiteren Aufklärung bedurfte es zunächst noch der Entscheidung, ob das Enzym bei der Wirkung nicht selbst verändert wird. Diese Entscheidung, und zwar in dem Sinne, dass das Ferment während der ganzen Dauer der Spaltung mit sich selbst vergleichbar bleibt, konnte Henri auf zwei Weisen herbeiführen. Entweder prüfte er die Constante $2\,k_1$ an Rohrzuckerlösungen einerseits und an künstlich zusammengesetzten Gemischen von Rohrzucker und Invertzucker in gleicher Gesammtconcentration andererseits, so dass gleichsam das Enzym mitten in seiner Wirkung beobachtet wurde, dann blieb $2\,k_1$ constant; oder er setzte während der Wirkung zu verschiedenen Zeiten gleiche Mengen Rohrzucker neu hinzu: auch dann blieb $2\,k_1$ constant.

Das Ferment ändert sich also in seiner eigenen Wirksamkeit nicht; es kann nur das Milieu von Einfluss sein.

Es erwies sich nun, dass der Invertzucker einen deutlich hindernden Einfluss auf die Invertirung hat. Es wird in 110 Minuten gespalten:

Rohrzucker 0,5 Norm.		32 %
" " "	+ 0,1 N. Invertzucker	28 %
" " "	+ 0,2 " "	25 %
" " "	+ 0,3 " "	22 %
" " "	+ 0,4 " "	18 %
" " "	+ 0,5 " "	16 %

Dieser Einfluss wächst mit der Menge Invertzucker, die im Verhältniss zum Rohrzucker vorhanden ist.

Demgemäss erhöht nachträglicher Zusatz von Rohrzucker die Geschwindigkeit, indem er durch Verbesserung des Verhältnisses des Rohrzuckers zu Invertzucker dessen störende Wirkung abschwächt.

Die störende Wirkung geht fast allein von der Fructose aus.

Was ferner den Einfluss der Concentration des Rohrzuckers anbelangt, so ist bei mässig verdünnten Lösungen (0,5 — 0,1 N.) die Geschwindigkeit der Spaltung fast unabhängig davon; sie wird dagegen abhängig von der Concentration, sobald man verdünnte Lösungen unter 0,1 oder concentrirte über 0,5 N. anwendet. Bei

verdünnten wird sie mit abnehmender Concentration geringer, bei concentrirten mit zunehmender.

Die Fermentmenge hat ebenfalls Einfluss auf die Geschwindigkeit, die ihr nämlich proportional ist.

Theorie der Invertasewirkung.

Henri hat es unternommen, aus diesen Befunden ein Gesetz für die Wirkung der Invertase zu entwickeln. Die Formeln sprechen dafür, dass es sich bei der Invertasewirkung um eine katalytische Reaction handelt, bei der sich Zwischenverbindungen bilden und wieder zerfallen; und zwar nimmt Henri incomplete, zu Gleichgewichtszuständen führende Verbindungen von Enzym und Spaltproducten, wahrscheinlich Fructose allein, an.

Wir haben also nach dieser Annahme in jedem Moment der Reaction zunächst eine unvollständige Bindung von Enzym an Invertzucker: ein Theil des Enzyms bleibt frei. Das kann nun entweder frei auf den Rohrzucker wirken, oder es geht mit dem Rohrzucker eine anderweitige Verbindung ein und hydrolysirt ihn auf diese Weise.

Es sei nun X der freie Rest des Enzyms, z mit dem Rohrzucker, y mit der Fructose verbunden. Dann müssten nach dem Massengesetz folgende Gleichgewichtszustände vorhanden sein:

$$X(a-x) = \frac{1}{m} z; \quad Xx = \frac{1}{n} y,$$

wobei m und n die Gleichgewichtsconstanten sind. Das ganze Enzym sei $= \Phi$, dann ist

$$X + y + z = \Phi,$$

dann ist

$$X = \frac{\Phi}{1 + m(a-x) + nx},$$

$$z = \frac{m\Phi(a-x)}{1 + m(a-x) + nx}.$$

Nun giebt es zwei Hypothesen:

1. Es wirkt der freie Rest des Enzyms (X) auf den Rohrzucker; dann ist die Geschwindigkeit nach dem Massengesetz proportional dem Product aus beiden Grössen

$$\frac{dx}{dt} = kX(a-x),$$

oder für X den gewonnenen Werth gesetzt

$$\frac{dx}{dt} = \frac{k \Phi (a - x)}{1 + m(a - x) + nx}.$$

2. Es wirkt die Verbindung Rohrzucker-Enzym, dann ist die Geschwindigkeit proportional z, also $\frac{dx}{dt} = kz$, oder für z den gewonnenen Werth gesetzt: $\frac{dx}{dt} = \frac{k \Phi (a-x)}{1 + m(a-x) + nx}$. Für beide Annahmen ist also die berechnete Geschwindigkeitsconstante die gleiche.

Diese Formel giebt zugleich die Möglichkeit, zu erklären, warum bei geringen Concentrationen k von der Concentration abhängig ist, bei grösseren nicht. Wenn k_3 eine nur von der Fermentmenge (Φ) abhängige Constante, m und n von der Temperatur, dem Milieu, etc. abhängige Constanten sind, so muss k_3 bei jedem Einzelversuch constant bleiben. Wenn man also anfangs nur Rohrzucker (a) anwendet, so ist $\frac{dx}{dt} = \frac{k_3 (a-x)}{1 + m(a-x) + nx}$. Wenn man aber zum Anfang ein Gemenge von a_1 Rohrzucker und i Invertzucker hat, so ist

$$\frac{dx}{dt} = \frac{k_3 (a_1 - x)}{1 + m(a_1 - x) + n(x + i)}.$$

Im ersteren Falle ist bei Beginn der Reaction $x = 0$, die Anfangsgeschwindigkeit also $= \frac{k_3 a}{1 + ma}$. Ist nun a sehr klein, so wird ma gegen die 1 fast verschwinden, die Anfangsgeschwindigkeit also gleich $k_3 a$, also proportional der Concentration sein. Je grösser a wird, desto mehr tritt die 1 dagegen zurück; die Anfangsgeschwindigkeit wird immer weniger proportional der Concentration, um schliesslich $= \frac{k_3}{m}$ also constant zu werden. Die Anfangsgeschwindigkeit ist darzustellen durch eine Hyperbel mit einer der x — Axe parallelen Asymptote im Abstande k_3.

Im zweiten Falle ist die Anfangsgeschwindigkeit $= \frac{k_3 a_1}{1 + ma_1 + ni}$. Diese Formel drückt ganz scharf den hemmenden Einfluss der Spaltproducte (i) aus, sowie die Abhängigkeit dieses Einflusses von dem Verhältnis $\frac{a_1}{i}$.

Die Integration der Gleichung ergiebt

$$1) \quad k_3 = \frac{a}{t}\left[(m - n)\frac{x}{a} + n \ln \frac{a}{a-x}\right] + \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x},$$

und für den Fall der anfänglichen Gegenwart von i Spaltproducten:

$$2)\ k_3 = \frac{a_1}{t}\left[(m-n)\frac{x}{a_1} + n\left(1+\frac{i}{a_1}\right)\ln\frac{a_1}{a-x}\right] + \frac{1}{t}\ln\frac{a_1}{a_1-x}.$$

Die Werthe für k_3 werden genügend constant, wenn man $m = 30$, $n = 10$ setzt. Dann ergeben sich als experimentell zu prüfende Werthe für k_3.

$$1)\ k_3 = \frac{10a}{t}\left[2\frac{x}{a} + \ln\frac{a}{a-x}\right] + \frac{1}{t}\ln\frac{a}{a-x},$$

$$2)\ k_3 = \frac{10a_1}{t}\left[2\frac{x}{a_1} + \left(1+\frac{i}{a_1}\right)\ln\frac{a_1}{a_1-x}\right] + \frac{1}{t}\ln\frac{a_1}{a_1-x}.$$

Dafür stimmen nun thatsächlich die Versuche:

0,5 N. Rohrzucker:

Dauer in Minuten	Invertirter Antheil	$k_3\ 10^5$
75	0,037	(796)
186	0,103	904
399	0,228	958
505	0,292	987
557	0,322	997
1120	0,589	1002
1172	0,611	1005

Mittel 950.

Andere Reihen ergaben im Mittel 1026, 960, 923, 910, bei Concentrationen zwischen 1 und 0,01 Normal. Henri meint, dass andere Zahlen für m und n vielleicht noch genauere Werthe ergeben werden, und dass Temperatur- und Milieuänderungen m und n vielleicht ändern werden.

Für 25°, destillirtes Wasser, gleiche Fermentmenge, a in Normallösungen ausgedrückt, ist also nach Henri das Wirkungsgesetz der Invertase

$$\frac{dx}{dt} = \frac{k_3(a-x)}{1+m(a-x)+nx},\ \text{wobei } m = 30,\ n = 10 \text{ ist.}$$

Die Aenderungen von m und n mit der Temperatur versprechen noch wichtige Aufschlüsse über die Art der Bindung des Enzyms an das Substrat und die Spaltproducte, da diese Constanten die mit der Temperatur verschieblichen Gleichgewichtsconstanten dieser Systeme sind.

Invertase der Kryptogamen.

Die Invertase der Hefe und anderer Pilze ist von denen der anderen Pflanzen in manchen Punkten, besonders in Bezug auf Empfindlichkeit, beträchtlich verschieden.

Ihr Auftreten in anderen Kryptogamen wurde wohl zuerst von Béchamps[1]) in Schimmelpilzen beobachtet.

In Pilzen der Gattung Fusarium fand Wasserzug[2]) Invertase, die während der Conidienbildung producirt wird; in Leuconostoc mesenterioides, einem Parasiten des Rübensaftes, ist sie nach Zopf[3]) enthalten, Gayon[4]) fand sie in Aspergillus, nicht aber in Mucor.

In anderen Kryptogamen fand sie zuerst Kosmann[5]) in vielen Pilzen und Algen. Dann war es Bourquelot[6]), der Invertase in vielen Pilzen fand, z. B. in Aspergillus, nicht aber in Polyporus. Fernbach[7]) hat die Invertase des Aspergillus in Bezug auf ihre biologische Bedeutung untersucht. Er fand sie nur dann, wenn die Pilze anfingen, ihre Reservestoffe anzugreifen, d. h. wenn sie Noth litten. Um ihre Menge in vergleichbaren Werthen auszudrücken, hat er eine „Einheit“ eingeführt. Die Einheit der „Sucrase“ ist diejenige Menge, die 20 cg Sacharose bei 56° invertirt. Auch der Aspergillus Oryzae, der die Takadiastase absondert, enthält Invertase. Die Aspergillus-Invertase ist viel beständiger gegen Säuren.

Interessant ist das Verhalten der Monilia candida. Obwohl sie Rohrzucker zu vergähren im Stande ist, lässt sich aus ihr keine Invertase erhalten. Es schien also hier der einzige Fall einer directen Vergährung des Rohrzuckers vorzuliegen. Doch gelang es E. Fischer und Lindner[8]), nachzuweisen, dass die getrocknete Hefe, wenn man ihre eigentlich vitale Gährthätigkeit durch Toluol aufhebt, den Rohrzucker invertirt, und dass dasselbe bei der frischen Hefe der Fall ist, wenn man ihre Zellen durch Glaspulver zerreisst. Auch bei der Monilia candida findet also erst Hydrolyse, dann Vergährung statt, nur ist die specifische Invertase scheinbar in Wasser unlöslich. Ganz ähnliche Verhältnisse fand Fernbach[7]) auch bei anderen Pilzen.

---

1) Béchamps, C. R. **46**. 44 (1858).
2) Wasserzug, Ann. Inst. Pasteur. I 525 (1886).
3) Zopf, cit. n. Schlesinger, Virch. Arch. **125**. 156.
4) Gayon, C. R. **86**. 52 (1878).
5) Kosmann, Bull. soc. chim. (1877). 27. 251.
6) Bourquelot, a. a. O.
7) Fernbach, Ann. Inst. Pasteur. IV. 1 (1890).
8) E. Fischer und Lindner, Chem. Ber. **28**. 3034. Z. phys. Ch. **26**. 77 (1898).

Auch einzelne Bacterien liefern Invertase, so der Bacillus mesentericus vulgatus (Vignal[1]), Bac. megaterium (Fermi[2]) und einige andere, jedoch einige nur in saurer, andere in alkalischer Bouillon Inconstant findet sie sich auch im Choleravibrio[3]).

Invertase der Phanerogamen. Auch höhere Pflanzen enthalten in den lebenden Zellen Invertase. Dass im Haushalt der Pflanzen dieses Enzym eine Rolle spielt, erhellt schon daraus, dass sie Rohrzucker in ihren Säften bilden und verbrauchen, während andererseits der Rohrzucker vor der Assimilation invertirt sein muss, was nicht allein durch die Pflanzensäuren geschehen kann (Wortmann[4])). Im Malzextract fanden sie Brown und Heron[5]), in Blättern v. Planta[6]), Kossmann[7]), in Pollenkörnern van Tieghem[8]).

O'Sullivan[9]) wies dann die Gegenwart von Invertase in den Organen von Gramineen in derselben Weise nach, wie man sie in lebenden Hefezellen demonstrirt. Er behandelte Wurzeln, Stengel, Blätter von Weizen, Erbsen und Mais bei ca. 50° mit einer mit Chloroform gesättigten Rohrzuckerlösung. Dabei konnte Spaltung nachgewiesen und gemessen werden.

Die Zuckerrübe enthält ebenfalls Invertase. Sie ist in ihr von grosser biologischer Bedeutung, da die Rübe bei anaërober Athmung die Glucose vergährt, die aus dem Rohrzucker durch Invertase gebildet werden muss (Stoklasa, Jelinek und Vitek[10])).

Thierische Invertase. Im thierischen Organismus findet sich Invertase im Darmsaft, dessen invertirende Eigenschaft von Claude Bernard[11]) entdeckt wurde. Sie wurde dann vielfach näher untersucht (Röhmann[12]), v. Mering[13]), Grünert[14]), Miura[15]), Krüger[16])); sie

1) Vignal, cit. n. Green, Ann. of bot. VII. 120.
2) Fermi, C. f. Bact. XII. 713.
3) Fermi und Montisano, C. f. Bact. (2.) I. 482. 542 (1895).
4) Wortmann, Biolog. Centralbl. III. 263.
5) Brown und Heron, Journ. Chem. Soc. 35. 609 (1879).
6) v. Planta, Deutsch. Bienenzeitung 1879. 12, cit. n. Frankfurt, Landw. Vers.-Stat. 47 (1896).
7) Kossmann, C. R. 81. 406.
8) van Tieghem, Bull. soc. bot. d. France. 33. 216 (1886).
9) O'Sullivan, Proceed. Chem. Soc. XVI. 61. Chem. Centralbl. 1900. I. 773.
10) Stoklasa, Jelinek und Vitek, Hofmeister's Beitr. III. 460 (1903).
11) Claude Bernard, Leç. sur le Diabète. Paris 1887. S. 259.
12) Röhmann, Pflüg. Arch. 41. S. 432 (dort ältere Litterat.), s. a. Köbner, Z. f. Biol. 33. 404 (1896).
13) v. Mering, Z. phys. Ch. V. 192.
14) Grünert, Cbl. f. Phys. V. 285.
15) Miura, Z. f. Biol. 32. 277.
16) Krüger, Z. f. Biol. 37. 229 (1899).

findet sich auch bei Totgeborenen, wird also nicht etwa nur mit der Nahrung aufgenommen (Miura[1]); sie fehlt aber in dem Darm des Rindes (Emil Fischer und Niebel[2]). Im oberen Darmtheil findet sie sich mehr als im unteren (Röhmann, l. c.). In dem Schleimhautextract fand Röhmann[3]) mehr als im Secret. Nach Widdicombe[4]) findet sie sich in der Darmschleimhaut der Taube, nicht in den Payer'schen Plaques, ausserdem im Magensaft.

Dagegen fehlt sie im Pankreas und Speichel (v. Mering[5]), Brown und Heron[6]); findet sich aber im Bienenspeichel (Erlenmeyer[7]). Sie fehlt auch im Blut, da Rohrzucker bei intravenöser Injection unverändert im Harn erscheint (Cl. Bernard[8]).

Trotzdem fand Renzi[9]) nach Exstirpation der Speicheldrüsen die Assimilationsgrenze für Rohrzucker herabgesetzt, eine Thatsache, die sehr der Aufklärung bedürftig ist.

Robertson[10]) fand Invertase in fast allen Organen.

Nach Nasse[11]) wird die Wirkung der Invertase durch Sauerstoff und Kohlenoxyd beeinträchtigt, dagegen wirkt nach Fermi und Pernossi[12]) Schwefelwasserstoff nicht auf sie ein. Gegen Säuren und Alkalien ist sie sehr empfindlich, namentlich bei höherer Temperatur. Auch ohne Säure wird sie bei 75° schnell zerstört[13]). Neutralsalze verhalten sich ausserordentlich verschieden, Ammoniaksalze wirken sehr energisch fördernd, Chlorkalium stark hemmend etc.[14]), Alkohol hemmt schwach, Weinsäure wirkt günstig[15]).

Trehalase. Ein Enzym, das die Trehalose, ein in Pilzen (z. B. Lactarius piperatus) und der syrischen Manna vorkommendes Disacharid, in zwei Mol. Glucose spaltet, fand Bourquelot[16]) in Asper-

1) Miura, Z. f. Biol. 32. 277.
2) Fischer und Niebel, Sitzb. Berl. Acad. 1896. V. S.-A.
3) Röhmann, Verh. d. V. Physiol. Congresses. Turin 1901.
4) Widdicombe, J. of physiol. 28. 174 (1902).
5) v. Mering, Z. phys. Ch. V. 192.
6) Brown und Heron, Liebig's Ann. 204. 228.
7) Erlenmeyer, Münch. acad. Sitzb. Math.-phys. Kl. 1874. 205.
8) Cl. Bernard, cit. n. Schützenberger, l. c. S. 259.
9) Renzi, Berl. klin. Woch. 1892. No. 23.
10) Robertson, Edinburgh. Med. Journ. 1894, cit. n. Edmunds, Journal of physiology. XIX. 466 (1895).
11) Nasse, Pflüg. Arch. XV. 471.
12) Fermi und Pernossi, Z. f. Hygiene. XVIII. 83.
13) s. u. a. Green, Annals of botany. VII. 92.
14) Nasse, Pflüg. Arch. XI. 162.
15) Müller-Thurgau, Landwirthsch. Jahrb. 1885. 795.
16) Bourquelot, Bull. Soc. Mycol. IX. 64. 189 (1893). S.-A.

gillus und anderen Pilzen, ferner auch im Grünmalz. Er nannte es Trehalase.

E. Fischer[1]) fand sie in Grünmalzdiastase und in sehr geringer Menge auch in Hefen vom Frohbergtypus, wo sie allerdings nicht in das Wasserextract übergeht. In mehreren anderen Hefen fand sie Annusch Kalanthar[2]); Bau[3]) constatirte, dass die einzelnen Hefen sich sehr unregelmässig in Bezug auf Trehalase verhalten, so dass man sie nicht darnach gruppiren kann.

Bourquelot (l. c.) erhielt sie aus dem wässrigen Extract durch Fällen mit Alkohol. Sehr schwache Säuren befördern ihre Wirkung etwas, doch wird sie schon durch geringe Mengen geschwächt.

Ihre Wirksamkeitsgrenze liegt bei 64°, wodurch sie Bourquelot[4]) von der Maltase, die etwas höhere Temperatur erträgt, trennen konnte.

Mit voller Sicherheit lässt sich ihre Existenz noch nicht beweisen, obwohl die bedeutende structurelle Verschiedenheit der Maltose und der Trehalose die Annahme bedenklich macht, dass die Trehalase nur eine Modification der Maltase ist (E. Fischer, l. c. S. 81).

Bourquelot und Gley[5]) führen für die Specifität der Trehalase ins Feld, dass das maltaseführende Blutserum Trehalose nicht angreift. Wohl aber greift der Darmsaft einiger Thiere, auch des Karpfens Trehalose an.

Melibiase. Aus der Melitriose oder Raffinose lässt sich ein Disacharid, die Melibiose, abspalten, das bei weiterer Spaltung in d-Galactose und d-Glucose, also der Lactose analog zerfällt. Es ist noch fraglich, ob die erste Phase dieser Spaltung durch Invertase oder durch ein eigenes Enzym der Hefe bewirkt wird, das man als Raffinase zu bezeichnen hätte. Wahrscheinlicher ist das letztere, da invertasehaltiger Darmsaft Raffinose nicht angreift (Fischer und Niebel, l. c.).

Die weitere Spaltung geschieht nun auch durch ein Enzym, das in einigen Unterhefen vorhanden ist, das aber allen Oberhefen fehlt. Es wirkt sowohl in der frischen wie in der getrockneten Hefe, geht aber schwer in den wässerigen Auszug über (E. Fischer und Lindner[7])). Bauer[8]) hat diesem Enzym den Namen Melibiase gegeben.

1) E. Fischer, Z. phys. Ch. 26. 79 (1889).
2) Kalanthar, Z. phys. Ch. 26. 97 (1898).
3) Bau, Z. f. Spirit. Ind. 1899. 232, cit. n. Chem. Centralbl.
4) Bourquelot, Soc. Biol. 45. 425 (1893).
5) Bourquelot und Gley, Soc. Biol. 47. 515 (1895).
6) Bourquelot und Hérissey, C. R. 125. 116 (1897).
7) E. Fischer und Lindner. Chem. Ber. 28. 3034 (1895).
8) Bauer, Chemikerzeitung. 1895. 1873.

E. Fischer[1]) neigt indessen zu der Annahme, dass die Melibiase nur eine etwas abweichende Maltase ist. Invertase wirkt auf Melibiose nicht ein. Die „Anpassung“ von Hefen an Melibiose und die dabei auftretende Production von Melibiase hat Dienert[2]) untersucht.

Auch für die Spaltung anderer Disacharide, wie z. B. Turanose, Gentiobiose, nimmt Bourquelot[3]) die Existenz eigener, specifischer Enzyme an, die sich z. B. im käuflichen Emulsin und in Pilzextracten vorfinden.

Ob die Fermente, die Trisacharide spalten, specifisch sind, steht dahin. Für die Gentianosespaltung macht Bourquelot die Invertase verantwortlich (s. d.).

Für die Spaltung der Melicitose, eines Trisacharids aus der Brançon-Manna, nahm er allerdings[4]) ein eigenes Enzym, die Melicitase, an, die er in Aspergillus niger fand, der Turanose nicht angreift. Jetzt scheint er allerdings an eine Maltasewirkung zu glauben (l. c.).

Lactase ist ebenfalls ein specifisch wirkendes Enzym, das seine Thätigkeit ausschliesslich auf Milchzucker (Lactose) beschränkt und dieses Disacharid in d-Glucose und d-Galactose spaltet.

Sie wurde zuerst von Beyerinck[5]) in Milchzuckerhefen (Sacharomyces Kefir und Sacharomyces Tyrocola) angenommen, der ihr den Namen gab und ihre Existenz dadurch zu beweisen suchte, dass Leuchtbacterien auf Milchzuckernährböden nur dann ihre Thätigkeit entfalten konnten, wenn diesen Nährböden etwas der genannten Hefeculturen zugesetzt, dadurch etwas Glucose und damit also ein den genannten Bacterien zusagender Nährstoff erzeugt wurde (auxanographische Methode, s. o.). Indessen wurde die Beweiskraft dieser Versuche von Stekhoven[6]) bestritten. Erst Emil Fischer[7]) bewies die Existenz der Lactase durch den Nachweis der Spaltung vermittelst der Bildung von Glucosazon. Er konnte sie aus Kefirkörnern durch Wasserextraction und Fällung mit Alkohol, allerdings nicht frei von Invertase, darstellen. Reinculturen von Milchzuckerhefen lieferten zwar nur wenig wasserlösliches Enzym, die Hefe selbst aber hydrolysirte

1) E. Fischer, Z. phys. Ch. 26. 81 (1898).
2) Dienert, C. R. 129. 63 (1899).
3) Bourquelot, Soc. Biol. 55. 386 (1903).
4) Bourquelot und Hérissey, Bull. soc. mycol. de France. IX. 64. 189 (1893). S.-A.
5) Beyerinck, Cbl. f. Bacteriol. VI. 44 (1889).
6) Stekhoven, cit. n.
7) E. Fischer, Chem. Ber. 27. 3481 (1894).

bei Gegenwart von Toluol kräftig Milchzucker, verhielt sich also ähnlich wie die Monilia candida in Bezug auf Invertase (s. d.). Dienert[1]) hat dann durch Verreiben von Hefen, die er an Milchzuckervergährung angepasst hatte, mit destillirtem Wasser Lactase erhalten.

Mazé[2]) hat aus Käse einige Milchzuckerhefen isolirt, von denen eine etwas Lactase frei secernirte.

Lactase theilt mit anderen Fermenten die Fähigkeit, reversible Processe auszulösen. E. Fischer und Frankland-Armstrong[3]) geben an, dass bei 35° in einer concentrirten Lösung von Galactose und Glucose durch Lactase Milchzucker entsteht, oder wenigstens ein diesem sehr ähnliches Disacharid.

Maltase und Lactase scheinen sich in den verschiedenen Hefearten zu vertreten, da sie fast niemals zusammen in einer Hefeart beobachtet worden sind (F. Fischer[4])). Auch in maltaseführenden anderen Pilzen fanden Bourquelot und Hérissey[5]) keine Lactase. Nur Laborde[6]) hat in dem Eurotiopsis Gayoni einen Pilz beschrieben, der sowohl Maltose als Lactose angreift, also auch Lactase zu produciren scheint. Die Lactase scheint überhaupt näher mit den Fermenten vom Emulsintypus (s. u.) als mit dem übrigen Hefeenzymen vom Maltasetypus verwandt zu sein, da auch Emulsin den Milchzucker spaltet, während Maltase dies nicht thut. Neuerdings nimmt allerdings Bourquelot an, dass das Emulsin der Mandeln auch Lactase enthält, und darauf die Milchzuckerspaltung zurückzuführen ist (s. b. Emulsin).

Die Fähigkeit, ein Milchzucker spaltendes Ferment abzusondern, wird von Nägeli[7]) auch den Bacterien zugeschrieben.

Im Darmsaft fand Pregl[8]) keine Lactase.

Dasselbe Resultat erhielten Pautz und Vogel[9]) und Dastre[10]), die weder im Pankreas, noch in der Leber und im Darmsaft Lactase finden konnten. Andererseits fanden Röhmann und Lappe[11]) Lac-

---

1) Dienert, C. R. 129. 63 (1899).
2) Mazé, Ann. Pasteur XVII. 11. (1903).
3) E. Fischer u. Frankland Armstrong, Chem. Ber. 35. 3144 (1902).
4) E. Fischer, Z. phys. Ch. 26. 81.
5) Bourquelot und Hérissey, C. R. 1895. 693. Bull. soc. mycol. X. S. 235. S.-A.
6) Laborde, Ann. Inst. Pasteur. XI. 1. (1897).
7) Nägeli, Die niederen Pilze. 1882. S. 12.
8) Pregl, Pflüg. Arch. 61. 382.
9) Pautz und Vogel, Z. f. Biol. 32. 304 (1895).
10) Dastre, Archives d. physiol. 1890. 103.
11) Röhmann und Lappe, Chem. Ber. 28. 2506 (1895).

tase im Darm des Kalbes und Hundes, nicht aber des Ochsen. Strauss[1]) konnte Lactase im Darm nicht mit Sicherheit nachweisen.

Portier[2]) bestätigt und erweitert die Röhmann'schen Befunde; Pankreas enthielt nie Lactase, dagegen fand er sie im Darm junger, weniger in dem ausgewachsener Thiere; bei alten fehlte sie, desgleichen bei Vögeln.

Andererseits hat Weinland[3]) im Hundepankreas, besonders nach Milchfütterung, Lactase auffinden können.

1) Strauss, Berl. klin. Woch. **1898**. Nr. 18. S.-A.
2) Portier, Soc. Biol. **50**. 387 (1898).
3) Weinland, Z. f. Biol. **38**. 606 (1899).

Neunzehntes Capitel.

Die Glucosidspaltenden Fermente.

Wenn wir die im Einzelnen soeben besprochenen Thatsachen zusammenfassen, so finden wir, dass die Hefen vom gewöhnlichen Typus ausser diastatischen mit Sicherheit zwei Arten von Enzymen enthalten, von denen die eine Form, die Maltase und ihre Verwandten, die Maltose und ihr ähnlich configurirte Disacharide spalten, während die Invertase den Rohrzucker und die Raffinose zerlegt.

Vielleicht kommt als dritte selbständige Form die Trehalase hinzu. In den Milchzuckerhefen findet sich an Stelle der Maltase die anders wirkende Lactase, die leider in reiner Thätigkeit noch wenig erforscht ist.

Emil Fischer[1]) führt die specifische Wirksamkeit der Enzyme auf stereochemische Bedingungen zurück, in der Art, dass nicht nur die Structurverschiedenheiten, sondern auch die Verschiedenheiten der Configuration die Basis darstellen, auf der die specifische Thätigkeit der Enzyme beruht. Besonders wichtig für diese Betrachtungsweise sind seine Studien über die Wirkung der Enzyme auf die Glucoside, nicht nur die natürlich vorkommenden, sondern besonders auf die von ihm synthetisch erhaltenen einfachen Glucoside.

Durch Condensation von einfachen Hexosen (Glucose, Mannose, Sorbose, Fructose etc.) mit Alkoholen, besonders Methylalkohol, unter Einwirkung von Salzsäure gelang es ihm, z. B. Methylglucoside dieser Zucker künstlich darzustellen. Bei dieser Condensation entstehen nun stets zwei Stereomere, die Fischer als α- und β-Glucoside unterscheidet, z. B. α-Methylmannosid und β-Methylmannosid aus der d-Mannose etc. Prüft man nun diese einfachen Glucoside in ihrem Verhalten gegen die Hefenenzyme, so kann man constatiren, dass von diesen ausschliesslich die α-Modification in den ursprünglichen Zucker gespalten wird, während die β-Modification gegen die Hefenenzyme völlig resistent ist.

1) E. Fischer, Z. phys. Ch. 26. 61 (1898).

Hieraus folgt mit Sicherheit, dass die Wirkung der Enzyme durch Verschiedenheiten im stereochemischen Bau der Glucoside bedingt ist. Dies wird weiterhin dadurch gestützt, dass die Glucoside der nicht gährfähigen Zucker, also aller Pentosen und Heptosen, sowie sämmtlicher l-Zucker, z. B. auch der l-Glucose gegen die Hefenenzyme beständig sind.

Während aber diese zum Theil structurell, zum Theil stereochemisch verschiedenen Glucoside überhaupt nicht durch irgend welche Enzyme, die bis jetzt bekannt sind, spaltbar sind, haben die gegen die Hefenenzyme beständigen β-Glucoside der gährfähigen Zucker die Eigenschaft, von einem anderen Ferment in ihre Componenten zerlegt zu werden, nämlich vom Emulsin, das wir weiter unten ausführlich besprechen werden. Die β-Glucoside theilen diese Eigenschaft mit einer grossen Anzahl natürlich vorkommender Glucoside.

Denn von allen diesen Glucosiden wird, soweit bekannt, nur eins von Hefenenzymen angegriffen, nämlich das Amygdalin der bitteren Mandeln. Das Amygdalin wird durch Emulsin in Benzaldehyd, Blausäure und Traubenzucker zerlegt. Dagegen spaltet Hefeinfus nur ein Molecül Traubenzucker ab, während der Rest des Glucosids nunmehr einen eigenartigen Körper, das Mandelnitrilglucosid[1]) darstellt, das, gegen Hefeenzyme beständig, durch Emulsin weiter in Benzaldehyd, Blausäure und Traubenzucker zerlegt wird. Alle übrigen natürlichen Glucoside dagegen sind überhaupt gegen Hefenenzyme völlig unempfindlich, während sie zum Theil durch Emulsin zerlegt werden. Sie entsprechen also in dieser Beziehung völlig den β-Glucosiden Fischer's.

Unter Hefenenzymen verstehen wir hier im Wesentlichen die Maltasen und die Invertase; die Trehalase ist zu wenig erforscht, doch liegt es nahe, sie mit den genannten Hefeenzymen für verwandt zu erachten, da Trehalose durch Emulsin nicht verändert wird (Bourquelot[2])).

Besonders interessant war die Beobachtung E. Fischer's, dass das Emulsin der Mandeln auch Milchzucker spaltet, wodurch dieser den β-Glucosiden nahegerückt erschien.

Indessen fand Bourquelot[3]) später, dass das Emulsin der Schimmelpilze diese Eigenschaft nicht hat; er nimmt deshalb an, dass Emulsin nicht an sich Milchzucker spaltet, sondern dass dem

1) E. Fischer, Chem. Ber. 28. 1508 (1895).
2) Bourquelot, Bull. soc. mycolog. IX. 189. S.-A.
3) Bourquelot und Hérissey, Soc. Biol. 55. 219 (1903).

Mandelemulsin eine Lactase beigemengt ist. Pottevin[1]) hat die Frage ausführlich untersucht. Auch er kommt zu der Ueberzeugung, dass die scheinbare Ausnahme von der Fischer'schen Regel, die den Milchzucker zu den β-Glucosiden stellen würde, thatsächlich nicht existirt.

Die Fermente vom Emulsintypus spalten ausschliesslich die linksdrehenden Glucoside; dies sind die natürlich vorkommenden und die künstlich dargestellten β-Glucoside. Die Spaltung des Milchzuckers durch das Emulsin der Mandeln beruht auf der Gegenwart einer Lactase, die auch das β-Methylgalactosid spaltet. Durch Züchtung von Aspergillus auf Nährböden, die Lactose oder β-Methylgalactosid enthalten, kann man auch diesen Pilzen die Eigenschaft verleihen, Lactose und β-Methylgalactosid zu spalten und zu vergähren. Auch Milchzuckerhefen vergähren β-Methylgalactosid, ebenso auch Aethyl- und Phenylgalactosid (E. Fischer und Armstrong[2])). Alle aber greifen das α-Methylgalactosid nicht an; wenn man aber Aspergillus auf α-Methylgalactosid enthaltenden Nährböden züchtet, so bildet er ein darauf eingestelltes Enzym.

In Bezug auf das Verhalten der Maltase den Glucosiden gegenüber giebt Pottevin noch folgende Einzelheiten an:

Die ausschliesslich Maltase enthaltenden Hefen, resp. die Extracte ihrer zerrissenen Zellen, nämlich Schizosacharomyces octosporus, sowie Mucor alternans und M. mucedo greifen α-Methylglucosid mehr minder energisch an, dagegen das Methylfructosid gar nicht.

Auch die Maltase des Blutes und des Harns greift α-Methylglucosid an.

Im Allgemeinen zieht Pottevin den Schluss, dass die linksdrehenden Glucoside vom β-Typus ausschliesslich vom Emulsin angegriffen werden, während Maltase ausschliesslich die rechtsdrehenden Glucoside (Maltose, α-Glucoside) angreift, und dass die Fructoside und Galactoside wieder eigener Enzyme (Invertase, Lactase) zu ihrer Spaltung bedürfen.

Auf die Bedeutung sterischer Eigenthümlichkeiten für die Glucosidspaltung weisen schliesslich noch Befunde von Bourquelot[3]) hin, dass Mandel- und Pilzemulsin auch Gentiobiose in 2 Mol. Glucose spalten, ein Disacharid, das aus Gentianose durch Invertasewirkung entsteht; auf Gentianose selbst wirkt Emulsin äusserst schwach, da es keine Invertase enthält. Bourquelot neigt desshalb zu der An-

1) Pottevin, Ann. Past. XVII. 31 (1903).
2) E. Fischer und Armstrong, Chem. Ber. 35. 3141 (1902).
3) Bourquelot, Journ. pharm. chim. (6.) XVI. 578 (1902).

nahme, dass die Emulsinpräparate noch eine Gentiobiase enthalten. Da Emulsin keine Maltase enthält, andererseits aber Gentiobiose spaltet, so nimmt Bourquelot an, dass im Amygdalin die beiden Glucosecomplexe nicht in maltoseähnlicher, sondern in gentiobioseähnlicher Bindung vorhanden sein mögen.

Emulsin,

früher auch Synaptase genannt, ist ein Enzym, das das in den Mandelkernen vorkommende Glucosid Amygdalin in Traubenzucker, Benzaldehyd und Blausäure spaltet.

Das Amygdalin wurde 1830 von Robiquet und Boutron-Chalard[1]) entdeckt und dargestellt. Dieselben haben auch die Eigenschaft der bitteren Mandeln beschrieben, bei der Berührung mit Wasser Blausäure und einen aromatisch riechenden Stoff abzuspalten.

Liebig und Wöhler[2]) haben dann das Amygdalin genau untersucht (1837) und der eiweissartigen Substanz, die seine Zersetzung in Traubenzucker, Benzaldehyd und Blausäure bewirkt, den Namen Emulsin gegeben.

Robiquet[3]) hat sodann als wirksames Princip eine nicht coagulirende, durch Tannin fällbare Substanz beschrieben, die er Synaptase nannte.

Vorkommen des Emulsins. Das Emulsin, das Liebig und Wöhler nur in den Mandeln auffinden konnten, ist sowohl in den höheren Pflanzen, als auch unter den Kryptogamen weit verbreitet; doch scheinen die Emulsine dieser verschiedenen Pflanzengruppen verschieden zu sein (Hérissey[4])).

Bei Phanerogamen findet sich Emulsin ausser in den Mandeln vor Allem in den Blättern von Prunus Laurocerasus und in den Samen verschiedener Rosaceen (Lutz[5])). In diesen Pflanzen finden sich dem Amygdalin ähnliche Glucoside[6]), z. B. das Laurocerasin u. a. m., die durch Emulsin in analoger Weise gespalten werden, das sich gleichzeitig in den Pflanzen vorfindet. Emulsin spaltet auch andere Glucoside, z. B. Arbutin, Salicin, Coniferin, Populin (s. u.).

1) Robiquet und Boutron-Chalard, Ann. Chim. Phys. (2.) 44. 352 (1830).
2) Liebig und Wöhler, Ann. d. Pharm. XXII. 1 (1837). Poggendorff's Ann. 41. 345.
3) Robiquet, Journ. Pharm. Chim. 24. 196 (1838).
4) Hérissey, Recherches sur l'Émulsine. Thèse. Paris. 1899. S. 6.
5) Lutz, Bull. soc. botan. d. France. 44. 26. 263 (1897), cit. n. Hérissey, l. c.
6) Näheres über alle diese Glucoside s. van Rijn, Die Glucoside. Berlin, Borntraeger 1900.

Blausäure und Benzaldehyd liefert ferner nach Poleck[1]) die Schleichera trijuga, von der das Makassaröl gewonnen wird, das Blausäure enthält. Amygdalin spalten ferner die Extracte zahlreicher Pflanzen: Monotropa, Polygala (Bourquelot[2])), Isatis alpina (Bréaudat[3])) und einer sehr grossen Anzahl anderer, darunter Malus communis, Hedera helix etc. (Hérissey[4])). Zahlreiche andere Pflanzen liefern bei der Destillation mit Wasser nur Blausäure, die aus Glucosiden abgespalten erscheint (Jorissen[5])), z. B. Aquilegia vulgaris, Ribes aureum, Manihot utilissima (Pfeffer[6])).

Im Leinsamen fanden Jorissen und Hairs[7]) ein besonderes Glucosid, das sie Linamarin nennen und das durch ein besonderes Emulsin in Blausäure, einen gährfähigen Zucker und einen ketonartigen Körper gespalten wird. Das Emulsin der Mandel ist ohne Wirkung, während umgekehrt das Leinsamenextract Amygdalin zerlegt(?) (Hérissey, l. c. S. 25).

In Kryptogamen wurde das Emulsin durch Bourquelot[8]) bekannt, der es in Aspergillus niger auffand. Gleichzeitig fand es Gérard[9]) in Penicillium glaucum. Bourquelot[10]) konnte es in sehr vielen Pilzen, besonders holzbewohnenden nachweisen; die Untersuchungen wurden dann von Hérissey[11]) fortgesetzt. Fast alle untersuchten parasitischen Pilze der verschiedensten Gattungen spalteten Amygdalin.

Hérissey fand es auch in Moosen[12]).

Auch Bacterien sollen emulsinähnliche Fermente besitzen; sie spalten Amygdalin unter Entstehung von Benzaldehyd, doch ist Glucose nicht nachweisbar (Gérard[13]), Fermi und Montisano[14]).

Auch im Thierreich scheinen emulsinähnliche Fermente vorzukommen.

Nach Moriggia und Ossi[15]) wirkt Amygdalin toxisch; sie nehmen

---

1) Poleck, Pharmac. Ztg. **1891**. 314.
2) Bourquelot, Journ. Pharm. Chim. (5.) **30**. 433 (1894).
3) Bréaudat, Bull. soc. biol. (10.) V. 1031 (1898).
4) Hérissey, l. c. S. 22ff.
5) Jorissen, Journ. d. Pharm. d'Anvers. **1894**. 23.
6) Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Leipzig 1881. S. 307.
7) Jorissen und Hairs, Bull. Acad. Belg. (9.) **21**. 518 (1891).
8) Bourquelot, Soc. Biol. **45**. 653. 804 (1893).
9) Gérard, Soc. Biol. **45**. 651 (1893).
10) Bourquelot, Bull. soc. mycol. **X**. 49 (1894). S.-A.
11) Hérissey, l. c. S. 8ff.
12) Hérissey, Soc. Biol. **50**. 532. (1898). Bull. soc. mycol. XV. S.-A.
13) Gérard, Journ. Pharm. Chim. (6.) III. 233 (1896).
14) Fermi und Montisano, Apothekerzeitg. IX. 583 (1894).
15) Moriggia und Ossi, Atti acad. Lincei 1875. cit. n.

zur Erklärung eine fermentative Spaltung im Darmkanal an; Fubini[1]) bestätigt ihre Behauptung.

Gérard[2]) hat im Darmsaft eines Kaninchens, das er mehrere Tage mit Salicin gefüttert hatte, ein Emulsin nachgewiesen, während das Pankreas kein Emulsin enthielt. Er fand es auch im Niereninfus von Pferd und Kaninchen, und konnte es durch Alkoholfällung isoliren[3]).

Bei Cephalopoden konnte Bourquelot[4]) kein Emulsin finden, ebenso wenig konnte er die Angabe von Staedeler[5]), dass Speicheldiastase Salicin spaltet, bestätigen. Er nimmt vielmehr an, dass eine eventuelle Spaltung des Salicins im Speichel durch Mikroorganismen bedingt sei. Dasselbe gilt von der Einwirkung auf Amygdalin, die Bougarel[6]) beobachtet hat.

Art des Auftretens des Emulsins in der Pflanze. Die Beziehungen des Amygdalins und Emulsins zu den Geweben der sie producirenden Pflanzen ist vielfach untersucht worden. Von vornherein musste man annehmen, dass sie beide getrennt sein müssten, da die Mandeln erst beim Anrühren mit Wasser die Blausäureabspaltung zeigten.

Thomé[7]) nahm an, dass das Emulsin nur in den bitteren Mandeln vorkäme, Amygdalin auch in den süssen. Pfeffer[8]) wies dem Emulsin seinen Platz im Protoplasma der Zelle an, während das Amygdalin im Zellsaft vorhanden sein sollte. Portes[9]) fand das Emulsin im Embryo des Samens, das Amygdalin im Cotyledo. Johansen[10]) fand das Emulsin in allen Gefässbündeln und zwar auch der süssen Mandeln; der Embryo selbst enthielt kein Amygdalin, sondern nur Emulsin.

Dann hat Guignard[11]) umfangreiche Untersuchungen über das Vorkommen von Emulsin aufgestellt.

Mit Hilfe einer Farbenreaction, nämlich einer roth-orange Färbung durch Millon's Reagens, konnte er das Emulsin mikrochemisch

1) Fubini, Arch. ital. d. Biol. XIV. 436 (1891).
2) Gérard, Journ. Pharm. Chim. (6.) III. 233 (1896). Soc. Biol. **48.** 44 (1896).
3) Gérard, Soc. Biol. 53. 99 (1901).
4) Bourquelot, Digestion chez les Mollusques. Thèse. Paris 1885. 47, cit. n. Hérissey, l. c.
5) Staedeler, Journ. pr. Ch. **72.** 250 (1857).
6) Bougarel, De l'amygdaline. Thèse de pharm. Paris 1877, cit. n. Hérissey, l. c.
7) Thomé, Botan. Ztg. **1865.** 240.
8) Pfeffer, Pflanzenphysiol. I. S. 307.
9) Portes, Journ. pharm. chim. **26.** 410 (1877).
10) Johansen, Annal. d. sciences nation. d. Botanique. (7.) VI. 118 (1887).
11) Guignard, Journal de Botan. IV. 3; 19 (1890). Journ. pharm. chim. (5.) **21.** 233 (1890).

identificiren. So fand er diese Reaction in den Blättern von Cerasus Lusitanicus.

Er fand in den Blättern und Samen anatomisch wohlcharakterisirte Fundstellen für das Emulsin und zwar in bestimmten Zellgruppen, die er isoliren konnte und die wirksames Ferment lieferten.

Bedingungen der Emulsinbildung. Für die Samen von Cerasus avium hat Hérissey[1]) nachgewiesen, dass sich das Emulsin eher bildet, als das Amygdalin.

Hérissey (l. c. S. 33) hat ferner die Bedingungen der Emulsinbildung bei Aspergillus niger untersucht. Seine Hauptresultate sind, dass die Emulsinmengen schwanken: um so geringer werden, je mehr sich der Pilz der Fruchtbildung nähert, dass das Ferment ferner bei reichlicher Ernährung verschwindet, beim Hungern dagegen wieder auftritt.

Erwähnt sei beiläufig, dass nach den Befunden von Puriewitsch[2]) die lebenden Schimmelpilze ausser anderen Glucosiden auch Helicin spalten: dann aber durch den gebildeten Salicylaldehyd zu Grunde gehen; dagegen verläuft die Amygdalinspaltung, wenn man die Lebensthätigkeit der Pilze nicht durch Chloroform lähmt, in der Weise anders, dass keine Blausäure, sondern Ammoniak uud Mandelsäure entstehen.

Die Spaltung des Amygdalins durch Bacterien ist u. A. von Fermi und Montisano[3]) untersucht worden. Sie fanden diese Fähigkeit bei verschiedenen Arten, jedoch liess sich niemals Zucker unter den Spaltproducten nachweisen; auch zerlegten die Bacterien das Amygdalin nicht, wenn ihnen Zucker im Nährsubstrat zur Verfügung stand; wir haben also nach diesen Befunden auch hier ein Beispiel dafür, dass die Enzyme sehr häufig nur dann gebildet werden, wenn die Zerlegung des Materials von physiologischer Bedeutung für den fermenterzeugenden Organismus ist.

Darstellung und Eigenschaften des Emulsins. Emulsin ist in reinem Zustande nicht bekannt.

Robiquet[4]) erhielt seine Synaptase aus dem ausgepressten Saft von Mandeln durch Fällen der beigemengten Eiweissstoffe durch Essigsäure, weitere Fällungen mit Bleiacetat und schliesslich mit Alkohol.

Thomson und Richardson[5]) schüttelten die Fettstoffe mit Aether aus und fällten die übrig bleibende Flüssigkeit mit Alkohol.

1) Hérissey, l. c. S. 38.
2) Puriewitsch, Ber. d. d. botan. Ges. XVI. 368 (1898).
3) Fermi und Montisano, Apoth.-Ztg. 1894. 583.
4) Robiquet, Journ. Pharm. Chim. 24. 326 (1838).
5) Thomson und Richardson, Ann. d. Pharm. 29. 180 (1839).

Ortloff[1]) liess die Fette ranzig werden, filtrirte und fällte mit Alkohol, löste in Wasser und fällte nochmals. Aehnlich verfuhr Buckland W. Bull[2]).

Schmidt[3]) fand, dass Emulsinlösungen durch Essigsäure und Ferrocyankalium nicht getrübt werden, und sieht darin ein Mittel, das Emulsin von den beigemengten Eiweisssubstanzen zu trennen. Er gewann es dann durch Fällen mit Alkohol als weisses Pulver.

Hérissey[4]) extrahirte feingepulverte Mandeln mit Chloroformwasser, entfernte durch wenig Eisessig eiweissähnliche Beimengungen und fällte mit Alkohol.

Er erhielt das Emulsin so als weisses in Wasser lösliches Pulver. Es zeigte die üblichen Eiweissreactionen und war linksdrehend.

Es enthält in allen Präparaten zweifellos noch Eiweissstoffe, ausserdem aber wahrscheinlich ein Araban(?), das mit Schwefelsäure Arabinose liefert, ebenso wie die Diastase (s. d.). Es geht durch Porzellanfilter hindurch, jedoch passirt das Aspergillusenzym besser, als das der Mandeln.

Es giebt mit Millon's Reagens eine rothorange, mit Orcin und Salzsäure eine violette Färbung. Letztere giebt auch Diastase, nicht aber Pepsin und Trypsin (Guignard[5])).

Das Emulsin des Aspergillus konnte Hérissey nicht von den anderen Enzymen des Pilzes trennen.

Wirkungen des Emulsins. Emulsin spaltet unter Wasseraufnahme Amygdalin in 2 Mol. Glucose, Blausäure und Benzaldehyd;

$$C_{20}H_{27}NO_{11} = 2C_6H_{12}O_6 + HCN + C_6H_5CHO;$$

das Mandelnitrilglucosid, das aus Amygdalin durch Hefeenzym entsteht[6]), in

1 Mol. Glucose, Blausäure, Benzaldehyd;

das Arbutin[7]) der Ericaceen in

1 Mol. Glucose + Hydrochinon:

$$C_{12}H_{16}O_7 = C_6H_{12}O_6 + C_6H_4(OH)_2;$$

das Coniferin der Coniferen in

1 Mol. Glucose und Coniferylalkohol:

$$C_{16}H_{22}O_8 = C_6H_{12}O_6 + C_{10}H_{12}O_3;$$

1) Ortloff, Arch. d. Pharmac. 48. 12 (1846), dort ältere Litteratur über die bitteren Mandeln und ihre Giftigkeit.
2) Bull, Ann. Chem. Pharm. 69. 145 (1849).
3) Schmidt, Dissert. Tübingen 1871.
4) Hérissey, l. c. S. 44 ff.
5) Guignard, Journal de botan. IV. 3. 19 (1890).
6) E. Fischer, Chem. Ber. 28. 1508 (1895).
7) Kawalier, J. prakt. Ch. 58. 193 (1853).

das Glucovanillin in Glucose und Vanillin:

$$C_{14}H_{18}O_8 = C_6H_{12}O_3 + C_6H_3\begin{cases}CHO\\OCH_3\\OH\end{cases};$$

analog die Glucovanillinsäure in Vanillinsäure;

das Salicin der Populusarten in Saligenin (Piria[1]):

$$C_{13}H_{18}O_7 = C_6H_{12}O_6 + C_6H_4\begin{cases}OH\\CH_2OH\end{cases};$$

Analog dessen Oxydationsproduct Helicin in Salicylaldehyd; ferner Daphnin in Daphnetin, Aesculin in Aesculetin [4,5 Dioxycumarin $(OH)_2C_6H_2\begin{cases}CH = CH\\O - CO\end{cases}$] Piceïn in Piceol (Tanret[2])). Ferner entsteht stets Glucose.

Ferner spaltet das Mandelemulsin nach Hérissey noch das Gentiopicrin aus Gentiana lutea, sowie das Syringin und Phyllirin, sehr schwach das Ononin und Helleboreïn (E. Fischer[3])). Dagegen ist es unwirksam auf Cyclamin, Apiin und Convallarin. Während nun aber diese letzteren auch von Aspergillusemulsin nicht angegriffen werden, zerlegt dieses die vom Mandelemulsin nur schwach angegriffenen Glucoside Ononin und Helleboreïn, sowie die gar nicht vom Mandelemulsin beeinflussbaren Populin und Phlorhizin (Hérissey[4])), ersteres in Benzoylsaligenin, letzteres in Phloretin.

Beide sind ferner unwirksam auf Solanin, Hesperidin, Convallamarin, Convolvulin, Digitalin (crystallis.), Hederin, Quercitrin. Emulsin wirkt nicht auf Monobutyrin, ist also von der Lipase verschieden (Gérard[5])).

Das Optimum der Wirkung des Emulsins liegt bei 45—50° [6]), die Zerstörungstemperatur ist bei ca. 70° (Hérissey). Trocken kann man es stundenlang auf 100° erhitzen, ohne dass es zerstört wird (Bull, l. c.).

Durch Alkalien wird es zerstört, durch Salzsäure u. a. Mineralsäuren nur inactivirt[7]); Essigsäure und Ameisensäure sind unwirksam (Bouchardat[8])).

1) Piria, Ann. Chem. Phys. (3.) XIV. 257 (1845).
2) Tanret, C. R. 119. 80 (1894).
3) E. Fischer, Z. phys. Ch. 26. 70 (1898).
4) Hérissey, l. c. S. 57ff., vgl. Bourquelot und Hérissey, Bull. soc. mycol. XI. 199. 235 (1895); id. Journ. Pharm. Chim. (6.) II. 435 (1895); Hérissey, Soc. Biol. 48. 640 (1896).
5) Gérard, C. R. 124. 370 (1895).
6) Tamman, Z. phys. Ch. XVI. 271 (1892).
7) Jacobson, Z. phys. Ch. XVI (1892).
8) Bouchardat, C. R. XX. 111 (1845).

Ebenso die meisten Neutralsalze, auch der Schwermetalle; nur einige, z. B. Ammoniumcarbonat, Kupfersulfat, verzögern die Wirkung.

In Glycerin wirken Amygdalin und Emulsin nicht auf einander (Schmidt[1]).

Die Wirkung anderer Fermente auf Emulsin ist unsicher, Trypsin ist jedenfalls wirkungslos. Im Magensaft ist es zunächst wirksam, da bei gleichzeitiger Einführung von Amygdalin und Emulsin in den Magen das Thier an Blausäurevergiftung stirbt; es wird aber bald vernichtet (Claude Bernard[2]).

Chloroform, Aether, Thymol etc. sind unwirksam, auch Blausäure.

Durch Tannin wird nach Hérisey (l. c. S. 81) das Emulsin ausgefällt, der Niederschlag bleibt indessen wirksam.

Das Wirkungsgesetz des Emulsins.

Wir haben schon im „Allgemeinen Theil" die Arbeiten von Tamman über die Emulsinwirkung besprochen. Henri[3]) hat in derselben Weise wie die Invertase (s. dort) auch die Salicinspaltung durch Emulsin untersucht und ist zu folgenden Resultaten gekommen:

Die Emulsinspaltung folgt nicht der logarithmischen Curve der Säurespaltung, vielmehr wird k dauernd kleiner. Dadurch weicht sie also von der Invertasewirkung ab.

Der Einfluss der Concentration und der Spaltproducte ist ganz ähnlich wie bei der Invertase. Das Ferment selbst wird bei 25° nicht geschädigt.

Die Formel für die Emulsinwirkung ist demnach dieselbe wie für die Invertase, nur ist hier $n > m$, und zwar passen die Werthe $n = 120$, $m = 40$, so dass sich als zu prüfende Werthe für k_3 ergeben:

$$k_3 = \frac{40\,a}{t}\left[-2\frac{x}{a} + 3\ln\frac{a}{a-x}\right] + \frac{1}{t}\ln\frac{a}{a-x}$$

und bei Anwesenheit von i Spaltproducten:

$$k_3 = \frac{40\,a_1}{t}\left[-\frac{2x}{a_1} + 3\left(1 + \frac{i}{a_1}\right)\ln\frac{a_1}{a_1 - x}\right] + \frac{1}{t}\ln\frac{a_1}{a_1 - x}.$$

Diese Werthe wurden experimentell geprüft und k_3 constant befunden (231—269 für $k_3\,10^2$). Es gelten also auch für das Emulsin dieselben theoretischen Erwägungen, wie für die Invertase (s. dort).

1) Schmidt, Diss. Tüb. 1871.
2) Cl. Bernard, Leç. pathol. expér. Paris 1890. S. 75.
3) Henri, Lois générales des Diastases. Paris 1903. S. 101.

Gaultherase.

Ein Enzym, das eine specifische Wirkung auf das Glucosid des Salicylsäuremethylesters ausübt, hat man in mehreren Pflanzen gefunden, in denen dieses Glucosid vorkommt.

Zuerst fand es Procter[1]). Dann entdeckte es Schneegans[2]) in Betula-Arten und nannte es Betulase. Bourquelot[3]) fand es in Betula, Spiraea ulmaria und filipendula, in Monotropa Hypopitys etc. und auch in Gaultheria procumbens. Da man nun das Glucosid zuerst in der Gaultheria gefunden und Gaultherin genannt hat (Schneegans und Gerock[4])), so nennt Bourquelot das dazugehörige Enzym Gaultherase. Es wirkt nicht auf Salicin und Amygdalin, ist also vom Emulsin verschieden. Beyerinck[5]) bestätigt diese Angaben und giebt ein Verfahren an, um durch Wasserextraction und Alkoholfällung zu einem wirksamen Gaultherasepräparat zu gelangen.

Gaultherase wirkt auch auf das Spiraein einiger Spiraea-Arten, ein Glucosid, aus dem sie Salicylaldehyd abspaltet[6]).

Myrosin.

Das eigenartige, scharf riechende und schmeckende Princip mancher Cruciferen, besonders des schwarzen Senfsamens, hat schon frühzeitig die Aufmerksamkeit der Forscher erregt. Wie wir einer interessanten historischen Uebersicht von Spatzier[7]) entnehmen, ist das wirksame Princip, das Senföl, wahrscheinlich schon Lefèbre im Jahre 1660, sicher aber Boerhave 1775 bekannt gewesen. Thibierge[8]) hat dann das Senföl zuerst aus dem Safte durch Destillation abgeschieden und den Schwefel darin aufgefunden, und Thomson[9]) hat seine Untersuchungen fortgesetzt und erweitert. Einen wichtigen Schritt vorwärts in der Erkenntniss des Vorganges thaten Boutron und Robiquet[10]) und Fauré[11]), die die Entdeckung machten, dass

1) Procter, Americ. Journ. of Pharm. XV. 241, cit. n. Bourquelot, l. c.
2) Schneegans, Journ. d. Pharm. von Els.-Lothr. 1896. 17.
3) Bourquelot, Journ. d. Pharm. Chim. 1896. (Juni.) S.-A.
4) Schneegans und Gerock, Archiv d. Pharmacie. 232. 437 (1894).
5) Beyerinck, C. f. Bact. (2.) V. 425 (1899).
6) van Rijn, l. c. S. 488.
7) Spatzier, Pringsheim's Jahrb. f. wissensch. Botanik. 25. 93 (1893).
8) Thibierge, Journ. de Pharm. V. 439 (1819).
9) Thomson, Journ. de Pharm. V. 448 (1819).
10) Boutron und Robiquet, Journ. d. Pharm. XVII. 279.
11) Fauré, Journ. de Pharm. XVII. 299.

das Senföl in den Samen nicht vorgebildet ist, sondern erst beim Anrühren mit Wasser entsteht. Auf das eigenthümliche wirksame Princip dieser Umsetzung wurde dann von Boutron und Frémy[1]) hingewiesen.

Die eigentliche Entdeckung des Myrosins ist indessen Bussy[2]) zuzuschreiben. Er unterschied zuerst in der Emulsion des Senfsamens das wirksame Princip, das Ferment Myrosin von dem zu spaltenden Glucosid, dem myronsauren Kalium oder Sinigrin. Er wies auf die Beziehungen zu dem ähnlichen Emulsin hin, verkannte aber nicht die Verschiedenheiten der specifischen Wirkung.

Das myronsaure Kalium wurde dann von Ludwig und Lange[3]) genauer untersucht und eine, allerdings noch nicht ganz richtige Formel dafür angeben. Die Aufklärung des Chemismus verdanken wir Will und Körner.[4]) Danach zerfällt das Glucosid myronsaures Kalium unter dem Einfluss des Myrosins in Traubenzucker, saures schwefelsaures Kali und Allylsenföl, nach der Formel:

$$C_{10}H_{18}NKS_2O_{10} = C_6H_{12}O_6 + KHSO_4 + C_3H_5N = C = S.$$

Es geht also aus dieser Formel nicht hervor, dass die Elemente des Wassers in den Process mit eingehen; danach hätten wir also kein Recht, den Process einfach als einen hydrolytischen zu bezeichnen Trotzdem schreibt man allgemein das Myrosin den hydrolytischen Fermenten zu, da der Vorgang ausschliesslich in wässeriger Lösung vor sich geht. Diese Ansicht ist um so wahrscheinlicher, als man jetzt nach Gadamer[5]) dem Glucosid ein Mol. Krystallwasser zuschreibt, das bei 100^0 abgespalten werden kann und in den Process dann mit eingeht. Er giebt dem Sinigrin die Formel:

$$(C_3H_5)N:C(SC_6H_{11}O_5)OSO_3K + H_2O,$$

also eines complicirten Derivates der hypothetischen Oximinothiokohlensäure $C = (NOH)(OH)(SH)$.

Das Ferment, dass überall das gleiche zu sein scheint, wo es in den Cruciferen vorkommt (Smith[6])), ist in annähernd reinem Zustande nicht isolirt[7]), zeigt indessen im Grossen und Ganzen die üblichen Fermentreactionen. Die Farbenreactionen, durch die man es in den

1) Boutron und Frémy, Lieb. Ann. 34. 230 (1840).
2) Bussy, Liebig's Ann. 34. 223 (1840).
3) Ludwig und Lange, Zeitsch. f. Pharm. III. 430. 577, cit. n.
4) Will und Körner, Lieb. Ann. 125. 257 (1863).
5) Gadamer, Journ. d. pharm. (6.) IV. 462 (1896); ferner Arch. f. Pharmacie. 235. 44. 577 (1897).
6) Smith, Z. f. phys. Ch. XII. 432 (1886).
7) s. Will und Laubenheimer, Liebig's Ann. 199. 162 (1879).

Pflanzen nachzuweisen sucht (s. u.), sind wohl kaum auf das Ferment selbst, sondern auf ständige Beimengungen, besonders von Eiweisskörpern zurückzuführen. Auch seine Wirksamkeitsbedingungen sind ganz analog denen anderer Fermente. Doch ist es nach Schmidt[1]) schon bei 0° wirksam.

Vorkommen des Ferments. Nachdem zuerst die Entstehung von Senföl im schwarzen Senfsamen (Sinapis nigra) entdeckt war, suchte man derartige schwefelhaltige Oele in anderen Pflanzen, ohne sich zunächst um die Art ihrer Bildung zu kümmern.

So fand Senföl im Meerrettigöl Hubatka[2]), in den Wurzeln von Alliaria Wertheim[3]), ein etwas vom Allylsenföl verschiedenes Product Simon[4]) in Cochlearia officinalis beim Anrühren des alten, nicht mehr riechenden Krautes mit frischem, myrosinhaltigem Senfmehl. Es wurde später von A. W. Hofmann[5]) als secundäres Butylsenföl identificirt. Schliesslich fand Pless[6]) in zahlreichen Cruciferensamen Senföle, die aber nicht fertig darin gebildet sind. In anderen Pflanzen konnte Vollrath[7]) es auffinden, nämlich in Resedaarten.

Später indessen begnügte man sich nicht mehr mit dem einfachen Nachweis der Senföle, sondern suchte das Glucosid und das Ferment jedes für sich auf. Hier sind besonders die systematischen Arbeiten von Guignard[8]) und Spatzier[9]) zu erwähnen, die das Ferment in vielen Pflanzen und deren Organen suchten und fanden.

Von den Glucosiden, um diese vorweg zu nehmen, sind nur zwei bekannt, das myronsaure Kalium, das ausser im schwarzen Senfsamen noch u. a. in Brassica, Capsella und Cochlearia vorkommt, und das Sinalbin des weissen Senfs, das von Will und Laubenheimer (l. c.) genauer untersucht ist. Es ist dem myronsauren Kalium ähnlich, aber complexer gebaut. Gadamer (l. c.) giebt ihm die Formel $C_{30}H_{42}N_2S_2O_{15}$. Es krystallisirt mit 5 Mol. Krystallwasser, von denen 4 sehr leicht, das letzte sehr schwer fortzubringen ist, ähnlich wie beim Sinigrin. Es giebt bei der Spaltung neben Traubenzucker und einer complicirten Sulfonsäure Oxybenzylsenföl $C_6H_5(CHOH)NC{=}S$.

Die übrigen Glucoside der Cruciferen und der anderen Pflanzen, die bei der Myrosinspaltung Senföle und Traubenzucker liefern, sind

1) Schmidt, Chem. Ber. X. 187 (1877).
2) Hubatka, Lieb. Ann. 47. 157 (1843).
3) Wertheim, Lieb. Ann. 52. 52.
4) Simon, Poggend. Ann. 50. 377 (1840).
5) A. W. Hofmann, Chem. Ber. VII. 509 (1874).
6) Pless, Lieb. Ann. 58. 36 (1846).
7) Vollrath, Arch. d. Pharm. (II.) 148. 156 (1871).
8) Guignard, Journal de botan. 1890. 385.
9) Spatzier, Pringsheim's Jb. 25. 39 (1893).

noch nicht bekannt; dass es sich aber auch hier um Glucoside handelt, hat Spatzier dadurch nachgewiesen, dass er überall bei der Fermentwirkung die Abspaltung von Zucker darthat.

Alle diese Glucoside werden also von Myrosin gespalten, dagegen greift es weder α- noch β-Methylglucosid an (E. Fischer[1]).

Cheiranthus Cheiri (Goldlack) enthält zwar Myrosin, aber kein Glucosid.

Zum Nachweis des Ferments in den Pflanzen bedient sich Spatzier des charakteristischen Geruchs, indem er dem zu untersuchenden Pflanzensaft etwas myronsaures Kalium hinzufügt. War etwa der Geruch schon vorher vorhanden, so entfernt er das schon gebildete Oel durch gelindes Erwärmen, und prüft dann erst. Auf diesem Wege gelang es ihm nachzuweisen, dass die meisten Cruciferen sowohl in der Pflanze selbst, als auch im Samen Myrosin enthalten; indessen fehlt es z. B. bei Capsella bursa Pastoris. Ausserdem fand er es in der Epidermis der oberirdischen Theile und im Samen bei einigen Resedaceen, nur im Samen bei einigen Violaceen und Tropaeolaceen.

So viel über die Verbreitung des Ferments! Seine Localisation und die Art seiner Secretion hat zuerst Guignard (l. c.) genauer untersucht. Er fand durch mikrochemische Reactionen, dass es seinen Sitz hat in besonderen, zerstreuten Zellen, auf die zuerst Heinricher[2]) aufmerksam gemacht hatte, die weder Stärke, noch Fett oder Chlorophyll enthalten, aber starke Eiweissreactionen geben, und die er „Eiweissschläuche“ genannt hatte. Sie enthalten granulirte Massen, die durch Alkohol coaguliren und mit Millon's Reagens sich intensiver färben als Protoplasma. Er fand diese Zellen überall zerstreut, am reichsten daran zeigten sich die Samen. Das Glucosid wird in anderen Zellen abgelagert. Er konnte das Ferment besonders leicht aus dem Goldlack isoliren, wo es im Pericyclium des Stammes sehr reichlich abgelagert ist.

Spatzier (l. c.) hat dann diese Untersuchungen fortgeführt. Mit Hilfe von einigen Farbenreactionen, besonders Orceïn und Salzsäure, sowie durch die Geruchsreaction fand er Folgendes:

Die „Myrosinschläuche“ liegen entweder verstreut, oder aber, was häufig vorkommt, sie sind im engsten Connex mit den Gefässbündeln und lassen sich mit diesen isoliren; z. B. bei Cheiranthus Cheiri; dann enthält der Rückstand, der keine Gefässbündel und

1) E. Fischer, Chem. Ber. 27. 3483 (1894).
2) Heinricher, Mittheil. a. d. bot. Inst. Graz 1886. cit. n. Spatzier l. c.

keine Schläuche mehr enthält, auch kein Myrosin mehr. Capsella, die kein Ferment hat, zeigt auch keine Schläuche.

In den Samen liegen sie ebenso angeordnet wie in den fertigen Pflanzen, also entweder diffus oder im Procambium. Aber während in den entwickelten Pflanzen das Myrosin gelöst ist, findet es sich in den Samen in festen Körnchen. Glucosid und Ferment sind meist beide im Embryo vorhanden, doch kommen davon Ausnahmen vor.

Die Fermentbildung ist unabhängig von der Belichtung.

Rhamnase.

(Rhamninase) nennt man ein Enzym, das ausschliesslich in den Samen von Rhamnus infectoria (Avignonkörner, Gelbbeeren) vorkommt und von Marshall Ward und Dunlop[1]) untersucht worden ist. Die Früchte enthielten ein Glucosid, Xanthorhamnin, dem man die Formel $C_{48} H_{66} O_{29}$ zuschreibt. Behandelt man das Fruchtfleisch mit einem Extract der Samen, so spaltet sich das Glucosid in Rhamnin (Rhamnetin) und Glucose. Das Ferment hat seinen Sitz in der Raphe der Samen, deren Zellen eine fettig glänzende, farblose Substanz enthalten. Das Glucosid ist, wie stets, in anderen Zellen abgelagert.

Das Ferment wird durch Kochen zerstört. Ch. und G. Tanret[2]) haben dann weiterhin gefunden, dass das Glucosid sich dabei in Rhamninose und Rhamnetin spaltet. Die Rhamninose soll ein gegen Emulsin, Hefen- und Aspergillusenzyme beständiges Trisacharid sein, das sich in zwei Mol. Rhamnose (Methylpentose) und ein Mol. Galactose spalten lässt. Es wäre also das erste „Glucosid" entdeckt, das nicht Glucose unter seinen Spaltproducten zählt; indessen steht dieser Befund mit dem von Ward und Dunlop nicht im Einklang, die Glucose fanden.

Das Enzym der Indigobildung.

Während man bis vor kurzem allgemein die Spaltung des Glucosides Indican in Indigweiss und Indiglucin auf die Thätigkeit von Mikroben zurückgeführt hatte, spielt nach den Versuchen von v. Lookeren-Campagne[3]) und Bréaudat[4]) hier ein Enzym eine Rolle. Es gelang ersterem bei Indigofera tinctoria, letzterem bei Isatis alpina und einigen anderen indigoliefernden Pflanzen einerseits die typische Spaltung unter dem Einfluss von Chloroformwasser, wodurch

1) Marshall Ward und Dunlop, Annals of botany. I. S. 1 (1887).
2) Ch. und G. Tanret, Bull. Soc. Chim. (3.) 21. 1065 (1899).
3) v. Lookeren-Campagne, Landw. Versuchstat. 43. 401 (1894).
4) Bréaudat, C. R. 127. 769 (1898).

die Bacterien ausgeschaltet werden müssen; andererseits war die Spaltung nach vorhergehendem Erhitzen der Blätter resp. Kochen des Saftes nicht mehr zu erzielen. Bréaudat nimmt die successive Wirkung eines hydrolytischen Ferments an, das die Spaltung zu Indigweiss und Indiglucin vollzieht, und einer Oxydase, die das Indigweiss zu Indigblau oxydirt.

Die Indigofermente und die Glucoside, auf die sie einwirken, sind von Beyerinck[1]) und seinen Schülern genauer untersucht worden. Es findet sich ein Glucosid des Indoxyls (Isatan), das durch das Ferment Isatase oder Indimulsin (Hazewinkel[2])) in Indoxyl gespalten wird, nur in schwach saurer Lösung. Das Ferment ist dem Emulsin sehr ähnlich.

Andere glucosidspaltende Fermente. Es liegt uns noch ob, einige andere glucosidspaltende Fermente kurz zu erwähnen, die noch sehr mangelhaft untersucht sind.

Das Glucosid der Krappwurzel (Rubia tinctoria), die Ruberythrinsäure, wird durch ein gleichzeitig darin enthaltenes Ferment, das Erythrozym, in Alizarin und Glucose gespalten[3]). Emulsin wirkt ähnlich, aber viel schwächer; auf Amygdalin ist andererseits das Ferment ohne Einfluss.

Andere beschreibt Schützenberger[4]), die das Phyllirin (aus Phyllirea latifolia) und Populin spalten; ein ferneres, das Tannin spaltet. Diese „Tannase", die Tannin in Glucose und Gallussäure spalten soll, ist auch von Fernbach[5]) und Pottevin[6]) aus Culturen von Aspergillus niger erhalten worden. Ein Ferment, das nur Salicin spalten soll, fand Krauch[7]) in Kürbissen. Ein „neues" glucosidspaltendes Enzym will Berg[8]) aus Ecballium elaterium erhalten haben, das aus einem Glucosid das Elaterin abspalten soll und natürlich vor allen Dingen „Elaterase" getauft wird. Da es indessen auch Amygdalin spaltet, nebenbei auch Stärke und Rohrzucker, so dürfte man seine specifische Thätigkeit wohl dem Emulsin zuzuschreiben haben.

1) Beyerinck, Maly's Jb. 30. 973 (1900).
2) Hazewinkel, Maly's Jb. 30. 976 (1900).
3) Schunck, J. pr. Ch. 63. 222 (1854).
4) Schützenberger, Die Gährungserscheinungen. Intern. wiss. Bibl. 1876. S. 271.
5) Fernbach, C. R. 131. 1214 (1900).
6) Pottevin, C. R. 131. 1215.
7) Krauch, Landwirthsch. Versuchstat. 23. 77.
8) Berg, Bull. soc. chim. (3.) XVII. 85 (1897).

Dunstan und Henry[1]) stellten aus Lotus arabicus ein Glucosid Lotusin her, das durch ein eigenes Enzym (Lotase) in Traubenzucker, Lotoflavin und Blausäure gespalten wird. Es ist ausser Amygdalin das einzige blausäurebildende Enzym.

Schweitzer[2]) nimmt in den kaffeïnliefernden Pflanzen (Kolanüssen) mehrere Glucoside an: Kolanin, das unter der Einwirkung eines Enzyms in 1 Mol. Kolaroth, 1 Kaffeïn und 3 Glucose zerfällt, Cacaonin, das neben 1 Mol. Kolaroth und 1 Theobromin 6 Mol. Glucose liefert.

1) Dunstan und Henry, Proc. Roy. Soc. **67**. 224 (1901); **68**. 374 (1901).
2) Schweitzer, Pharmac. Ztg. **43**. 380; Chem. Centrbl. **1898**. II. 217.

Zwanzigstes Capitel.

Andere hydrolytische Fermente.

Fettspaltende Fermente.

Die lipolytischen Fermente, auch Steapsine[1]) oder Lipasen[2]) genannt, haben die Fähigkeit, Neutralfette zu spalten.

Die Fette sind Ester des Glycerins, eines dreiwerthigen Alkohols von der Formel CH_2 OHCHOHCH$_2$ OH, mit den sog. Fettsäuren, von denen die wichtigsten die Palmitinsäure $C_{15}H_{31}$ COOH, die Stearinsäure $C_{17}H_{35}$ COOH und die ungesättigte Oelsäure $C_{17}H_{33}$ COOH sind. Die Fette selbst bezeichnet man demzufolge als Palmitin, Stearin und Oleïn.

Die Fettausnutzung im Organismus scheint nach Untersuchungen von Connstein[3]) und vor allem Pflüger[4]) in viel grösserem Maasse unter vorhergehender Spaltung, nicht durch blosse Emulgirung vor sich zu gehen, als man früher annahm. Dabei dürften wohl Fermente eine grosse Rolle spielen.

Unter dem Einfluss der fettspaltenden Enzyme werden sie in ihre Bestandtheile, Glycerin und freie Säure, zerlegt. Man kann also ihre fettspaltende Thätigkeit dadurch erkennen und controliren, dass man die Säuren durch ihre Reaction auf Lakmus nachweist und eventuell mit Laugen quantitativ bestimmt.

Am längsten bekannt ist die fettspaltende Wirkung des pankreatischen Saftes.

Die erste Beobachtung eines Einflusses des Pankreas auf Fette rührt von Eberle[5]) her, der eine Emulgirung beobachtete.

1) Biedermann, Pflüg. Arch. 72. 157 (1898).

2) Hanriot, C. R. 123. 753 (1896).

3) Connstein, Pflüg. Arch. 65. 473; 69. 76, s. s. Zusammenfassung: Medicinische Woche 1900. No. 15.

4) Pflüger, in zahlreichen Arbeiten seines Archives, z. B. 80, 81, 85 etc.

5) Eberle, Physiologie der Verdauung. Würzburg 1834.

Claude Bernard[1]) untersuchte diese Eigenschaft genauer. Er legte auf die Emulgirung den Hauptwerth und nannte deshalb die wirkende Kraft „ferment émulsif".

Diese Emulsion ist aber eine secundäre Erscheinung. die überall an Fetten beobachtet werden kann, wenn sie zu einem geringen Theil verseift werden. Sobald eine Spur fettsaures Alkali zugegen ist, tritt die Emulsion beim Schütteln mit Wasser ein. Das Primäre bei der Wirkung des Pankreasenzyms ist die Abspaltung von freier Fettsäure, die dann mit dem Natriumcarbonat des Darmsaftes die zur Emulgirung nöthige Seife bildet.

Die saure Reaction ist schon von Cl. Bernard beobachtet worden. Besonders schön lässt sie sich an neutraler ätherischer Butterlösung mit Hilfe vom Lakmus beobachten.

Berthelot[2]) zeigte die Zerlegung von synthetisch hergestelltem Glycerinester, dem Monobutyrin, in Glycerin und Buttersäure. Das Ferment soll auch andere Säureester, z. B. Essigsäureester, zerlegen (Heritsch[3])), ferner Salol etc.

Das Ferment ist im Pankreas in wechselnder Menge vorhanden, sechs Stunden nach der Mahlzeit am wenigsten, beim nüchternen Thier am meisten (Grützner[4])).

Die Versuche, das Ferment zu isoliren, sind noch nicht über den allerersten Anfang hinausgekommen. Durch Glycerinextraction hat Grützner[4]) Pankreasinfuse erhalten, die die lipolytischen Functionen besitzen.

Die Schwierigkeit, das Ferment zu isoliren, beruht namentlich auf seiner ausserordentlichen Empfindlichkeit, besonders gegen Säuren, aber wie es scheint, auch gegen Kochsalz etc. Es ist deswegen auch nur aus ganz frischem Pankreas zu erhalten.

Hanriot[5]) ist geneigt, es als Eisensalz aufzufassen, da diese ganz ähnliche Wirkungen auslösen, eine Tendenz, die wir bei vielen Fermenten wiederfinden.

Eine Methode, seine Wirkung annähernd quantitativ zu schätzen, hat Grützner (l. c.) angegeben. Er zählt die Tropfenzahl einer Fermentlösung, die hinreichend ist, bekannte Mengen einer Mandelölemulsion

1) Cl. Bernard, Physiolog. expér. II.

2) Berthelot, cit. n. Gamgee, Phys. Ch. d. Verdauung, dtsch. von Asher und Beyer. 1897. S. 225.

3) Heritsch, Centralbl. med. Wiss. 1875. 449.

4) Grützner, Pflüg. Arch. XII. 302 (1876).

5) Hanriot, Soc. Biol. 53. 367 (1901).

zu spalten. Eine andere beruht auf der Verseifung von Monobutyrin und Titrirung der frei gewordenen Buttersäure (Hanriot und Camus[1]).

Das Ferment scheint nicht auf das Pankreas beschränkt zu sein.

Schmiedeberg[2]) isolirte aus Nieren, Leber und Blut sein Histozym, das sowohl Fette als Hippursäure zerlegen kann.

Hanriot[3]) fand Lipase im Blut und Serum fast aller untersuchten Thiere, und in der Leber, wo er sie mit Hilfe von Monobutyrin (s. o.) nachwies (Hanriot und Camus[4])) und quantitativ bestimmte.

Die Blutlipase soll nicht aus dem Pankreas stammen, da sie von der Pankreaslipase verschieden ist, besonders im Verhalten gegen Temperatureinflüsse und Alkalescenz (Hanriot[5]). Die Hämolipase soll mitunter beim Diabetes mellitus vermehrt sein, dagegen u. a. bei Pneumonie, Carcinom, Icterus vermindert (Achard und Clerc[6])). Aehnliche Resultate erzielte Carrière[7]).

Nach Arthus[8]) existirt die Blutlipase überhaupt nicht. Er unterwirft Hanriot's Zahlen einer sehr scharfen Kritik: Fette sollen überhaupt im Blut nicht fermentativ hydrolytisch zerlegt werden, sondern vielleicht durch Oxydation. Nur eine Monobutyrinase ist vorhanden, d. h. ein Enzym, das Monobutyrin spaltet.

Im Darm der Fische ist sie nach Knauthe[9]) vorhanden.

Im Darm der Insecten, speciell des Mehlwurms (Tenebrio molitor) fand Biedermann[10]) ein sehr energisch lipolytisches Ferment.

Endlich sei erwähnt, dass Klug[11]) im Pankreas ein fettspaltendes Enzym gefunden haben will, das Kohlensäure und Wasserstoff, aber kein Methan abspalten soll. Er fand es aber nicht in jedem Pankreas.

Auch andere Ester werden im Körper gespalten, vielleicht durch die Lipase, z. B. Salol[12]). Eine sehr intensive Spaltung durch Pankreasferment beobachteten Kastle und Loevenhart[13]) am Aethylbutyrat.

---

1) Hanriot und Camus, C. R. 124. 235 (1897).
2) Schmiedeberg, Arch. f. exp. Path. XIV. 379 (1881).
3) Hanriot, Soc. Biol. 48. 925 (1896); C. R. 123. 753.
4) Hanriot und Camus, C. R. 123. 831; 124. 235 (1897).
5) Hanriot, C. R. 124. 778 (1897).
6) Achard und Clerc, C. R. 129. 781 (1899).
7) Carrière, Soc. Biol. 51. 989 (1899).
8) Arthus, Journ. d. phys. et. path. IV. 455 (1902) (Litteratur).
9) Knauthe, Du Bois Arch. 1898 (Verh. phys. Ges.). 149.
10) Biedermann, Pflüg. Arch. 72. 157 (1898).
11) Klug, Pflüg. Arch. 70. 329.
12) s. z. B. Nobécourt u. Merklen, Soc. Biol. 53. 148 (1901).
13) Kastle und Loevenhart, Amer. Chem. Journ. 24. 491 (1900).

Aehnlich wirkt Leberextract. Beim Stehen in der Kälte nimmt es an Intensität etwas zu, indem Zymogen activirt wird.

Die Geschwindigkeit der Spaltung war fast proportional der Fermentmenge.

Eine **Fettspaltung im Magen** ist zuerst von Marcet[1]), Cash[2]) und Ogata[3]) angegeben worden. Später haben F. Müller[4]), sowie Klemperer und Scheuerlen[5]) ähnliche Befunde erhoben, doch haben letztere Autoren die geringe Fettspaltung auf beiläufige Gährungsvorgänge bezogen.

Eine genauere Untersuchung des „fettspaltenden Ferments" im Magen ist dann von Volhard[6]) angestellt worden.

Er erhielt aus Pawlow'schem Magensaft ein durch Erhitzen zerstörbares Ferment, das emulgirte Fette und nur diese bis zu 50 % (Milchfett) spaltet. Es wird im Fundus gebildet. Gegen Pepsin-HCl ist es sehr empfindlich.

Stade[7]) hat dann unter Volhards Leitung die Untersuchungen weiter ausgedehnt.

Da die Soxhlet-Methode zu niedere Werthe für das noch ungespaltene Fett und damit zu hohe für das fermentativ gespaltene lieferte, so benutzte Stade eine einfache Ausschüttelung mit Aether, von der er einen aliquoten Theil auf freie Fettsäuren und Neutralfett untersuchte, um so zu Vergleichszahlen zu gelangen.

Die Fettspaltung verläuft continuirlich mit der Zeit, wird aber allmählich langsamer. Bei kleinen Fettmengen verläuft die Spaltnng proportional der Fettmenge, bei grösseren wird sie relativ kleiner. Die Magenlipase folgt auch dem Schütz-Borissow'schen Gesetz, dass die Geschwindigkeit der Wurzel aus der Concentration des Fermentes proportional ist. Bei höheren Fermentconcentrationen stimmt es aber nicht mehr. Andererseits lässt sich aber wie für das Pepsin auch die Abhängigkeit von der Zeit constatiren, so dass das Zeitgesetz der Lipase, wie das des Pepsins lautet: $p = k\sqrt{ft}$, wenn p die Verdauungsproducte, f die Fermentmenge darstellt.

Inversion der Lipasewirkung. Die Spaltung der Glycerinester durch die Lipase ist ein reversibler Prozess, der unter geeigneten Umständen auch synthetisch rückwärts verlaufen kann. Kastle und

1) Marcet, The med. Times. 1858. 210, cit. n. Stade, l. c.
2) Cash, Du Bois Arch. 1880. 323.
3) Ogata, Du Bois Arch. 1881. 515.
4) F. Müller, Z. klin. Med. XII. 107 (1887).
5) Klemperer und Scheuerlen, Z. klin. Med. XV. 370.
6) Volhard, Z. klin. Med. 42. 414; 43. 397 (1901).
7) Stade, Hofmeister's Beitr. III. 291 (1902).

Loevenhart[1]) beobachteten eine Rückbildung von Aethylbutyrat unter dem Einflusse des Fermentes; ihre Versuche wurden von Mohr[2]) bestätigt.

Die Spaltung von Aethylbutyrat ist ein Vorgang, der mit ausserordentlich geringer Wärmeentwicklung einhergeht. Herzog[3]) giebt die Daten dafür: Aethylbutyrat hat 851,3 Kal, Buttersäure und Aethylalkohol zusammen 850,1, so dass im Ganzen 1,2 Kal. frei werden könnten.

Hanriot[4]) fand, dass Lipase in neutraler Lösung Glycerinester spaltet, dass sie dagegen in schwach saurer Lösung innerhalb bestimmter Aciditätsgrenzen synthetisch Monobutyrin bildet, das er identificiren konnte.

Lipolytische Pflanzenfermente. Das Auftreten von Fetten als Reservestoff in den Samen und ihre Auflösung im Keimungsprocess wurde zuerst von Mulder[5]) beobachtet, von Sachs[6]) genauer untersucht, der annahm, dass sich zuerst Stärke aus dem Fett bildet, was von Fleury[7]) widerlegt wurde.

Die erste Angabe, dass bei der Keimuug der Samen verschiedener Pflanzen ein fettspaltendes Enzym vorhanden sei, rührt von Müntz[8]) her, der das Auftreten von Fettsäuren constatirte, und wurde von Schützenberger[9]) bestätigt.

Die Verseifung der Pflanzenfette bei der Fäulniss hatten schon Boussingault[10]) und Pelouze[11]) beobachtet.

Green[12]) stellte aus den keimenden Samen von Ricinus communis durch Glycerin oder Kochsalzextraction mit nachfolgender Dialyse wirksame Enzymlösungen her, die bei 40° in kurzer Zeit aus Ricinusöl freie Fettsäuren abspalteten. Erwärmen zum Sieden zerstörte das Ferment. Säuren und Alkalien machten es unwirksam, ohne es zu zerstören.

1) Kastle und Loevenhart, l. c.
2) Mohr, Woch. f. Brauerei. XIX. 588 (1902); Chem. Centrbl. 1902. II. 1424.
3) Herzog, Z. phys. Ch. 37. 383 (1903).
4) Hanriot, Soc. Biol. 53. 70 (1901).
5) Mulder, Chemie des Bieres, übers. v. Grimm. S. 222.
6) Sachs, Botan. Ztg. 1859. 178; 1862. 242.
7) Fleury, Annal. de Chimie. (4.) IV. 38 (1865).
8) Müntz, Annal. de Chimie. [4.] XXII. 472 (1871).
9) Schützenberger, Die Gährungserscheinungen. Intern. wiss. Bibl. 1876. S. 263.
10) Boussingault, cit. n. Müntz, l. c.
11) Pelouze, Ann. d. chim. et phys. (3.) 45. 319.
12) Green, Proc. Roy. Soc. 48. 370 (1890).

Es ist nicht im Embryo, wie Müntz annahm, sondern nur im Endosperm aufgespeichert. Lumia[1]) fand Lipase im Kürbis, Ricinus und Cocosfrüchten.

Sigmund[2]) fand es in vielen anderen Samen, im ruhenden weniger als im keimenden Zustand. Er konnte aus dem Wasserextract durch Alkoholfällung ein wirksames Präparat gewinnen.

Connstein, Hoyer und Wartenberg[3]) konnten aus Ricinussamen ein sehr energisch wirkendes Ferment erhalten, das bei sauerer Reaction ($^1/_{10}$ — $^1/_3$ Normal) die Neutralfette fast quantitativ und in grosser Menge spaltet. Die stark saure Reaction ist nothwendig, beruht aber nicht auf der Activirung eines Zymogens. Gekeimte und ruhende Samen wirken gleichmässig.

Auch in Mikroorganismen kommen fettspaltende Fermente vor. So treten Verseifungen von Fettsäureestern bei allen Fäulnissprocessen ein.

Aus Penicillium hat Gérard[4]) eine Lipase gewonnen, desgleichen Camus[5]); aus Aspergillus niger[6]) ebenfalls, in geringer Menge; ferner Biffen[7]) aus einem auf der Cocosnuss lebenden, zu den Hypocreales gehörigen Pilze. Das Mycel mit Kieselguhr zerrieben und unter Druck filtrirt, liefert ein Extract, das sowohl Cocosöl als auch Monobutyrin spaltet. Das Enzym ist mit Alkohol fällbar, ohne seine Wirkung einzubüssen.

Es giebt auch noch einige andere Pilze, die nur auf fetthaltigen Nährböden wachsen, z. B. Empusa, Cordyceps, Cyclonium oleaginum (Brizi[8])), Inzengaea asterosperma (Borzi[9])).

Eine grosse Bedeutung schreibt Delbrück[10]) der Lipase der Hefe zu; er glaubt nämlich, dass das Glycerin bei der alkoholischen Gährung gar kein Gährproduct, sondern ein Spaltproduct des Hefefettes ist; auch die Bernsteinsäure wäre eventuell als Abkömmling der Fettsäuren zu betrachten.

Eine enge Beziehung zwischen Lipasen und glucosidspaltenden Enzymen soll nach Sigmund[11]) vorhanden sein, der durch Emulsin Fette und durch

1) Lumia, Staz. sperim. agrar. ital. 31. 397; Maly's Jb. 1899. 724.
2) Sigmund, Monatsh. f. Chemie. XI. 272 (1890).
3) Connstein, Hoyer und Wartenberg, Chem. Ber. 35. 3988 (1902).
4) Gérard, C. R. 124. 370 (1897).
5) Camus, Soc. Biol. 49. 192 (1897).
6) Camus, Soc. Biol. 49. 230 (1897).
7) Biffen, Annals of Botany. XIII. 336 (1899).
8) Brizi, cit. n. Biffen, l. c.
9) Borzi, Botan. Centralbl. 24. 14 (1885).
10) Delbrück, Woch. f. Brauerei 1903. Nr. 7. S.-A.
11) Sigmund, Monatsh. f. Chemie. Maly's Jb. 1892. 596.

Lipase Amygdalin gespalten haben will. Da er aber keine reinen Fermente anwandte, sind seine Versuche wenig beweiskräftig. Im Uebrigen sah Gérard (l. c.) keine Einwirkung von Emulsin auf Monobutyrin.

Auch fettspaltende Bacterien existiren, z. B, **Bacillus fluorescens non liquefaciens** (Krueger[1])).

Von pathogenen Spaltpilzen sollen nach Sommaruga[2]) u. A. Cholera- und Typhusbacterien, auch der Pyocyaneus Fette spalten. Nach Sommaruga sind sogar alle fettspaltenden Bacterien pathogen.

In Cholerabacillen fand auch Carrière[3]) eine Lipase.

Die ammoniakalische Gährung des Harnstoffs.

Wenn man Harn an der Luft stehen lässt, so wird er alkalisch und nimmt einen intensiven Geruch an. Dass dieser von entstehendem Ammoniak herrührt, ist schon frühzeitig erkannt worden, z. B. von Boerhave[4]).

van Helmont[5]) brachte den Geruch bereits mit „Fermentprocessen“, d. h. mit der Fäulniss zusammen. Nachdem man dann durch Prout[6]) die Zusammensetzung des Harnstoffs richtig erkannt und gefunden hatte, dass Harnstoff bei der Destillation in Ammoniak und Kohlensäure zerfällt, erklärten Fourcroy und Vauquelin[7]) die Bildung von Ammoniak durch die spontane Zersetzung von Harnstoff im Urin.

Proust[8]) gelang es zuerst, Harn vor dieser spontanen Gährung zu schützen und ihn lange unverändert aufzubewahren. Liebig[9]) nahm im Sinne seiner Zersetzungstheorie ein Ferment an. Man machte dann vielfach den Schleim, besonders den pathologischer Harne für diese Zersetzung verantwortlich[10]). Dass in solchem alkalischen Harn Mikroorganismen sich finden, hat zuerst Shearman[11]) beobachtet.

1) Krueger, C. f. Bact. VII. 467 (1890).
2) Sommaruga, Z. f. Hyg. XVIII. 441 (1894) (dort Litteratur).
3) Carrière, Soc. Biol. 53. 320 (1901).
4) Boerhave, Elementa chimiae. II. London 1732.
5) van Helmont, Opuscul. medic. inaudita I. de Lithiasi. S. 27, cit. n. Leube, l. c.
6) Prout. Annals of philos. XI. 352 (1818).
7) Fourcroy und Vauquelin, Ann. d. chim. 31. 48; 32. 80. 113.
8) Proust, ibid. IIe Sér. XIV. 257.
9) Liebig, Chem. Briefe. XV. 6. Aufl. 1878.
10) s. u. a. H. Fischer, Berl. klin. Woch. 1864. S. 18; Hankel, Schmidt's Jahrb. III. S. 1.
11) Shearman, Schmidt's Jahrb. 55. 276.

Aber erst durch die Arbeiten Müller's[1]), Pasteur's[2]) und seines Schülers van Tieghem[3]) wurde ihre Bedeutung sichergestellt. Pasteur konnte gekochten Harn in luftdicht verschlossenen Kolben unzersetzt aufbewahren, während er bei Luftzutritt sich zersetzte. van Tieghem fand constant Mikroorganismen in ammoniakalischem Harn, die er als Torulaceen bezeichnet. Er sah sie selten allein, meist mit Infusorien vergesellschaftet. Sie zersetzten auch Hippursäure. Dass die Keime von aussen her eindringen müssen, bestätigten auch die Versuche von Cazeneuve und Livon[4]), die lebenden Thieren die Blase abbanden, dann exstirpirten und den Harn so unverändert aufbewahren konnten, auch wenn sie ihn künstlich alkalisch, eiweiss- oder zuckerhaltig gemacht hatten. Umgossen sie die Blase mit Paraffin, so fand zwischen Blasenwand und Paraffin Gährung in dem hinausdialysirten Harn statt, nicht aber, wenn das Paraffin vorher sterilisirt war. Beim Oeffnen der Blase trat bald Gährung ein, und es liessen sich Coccen nachweisen.

Auch Meissner[5]) fand, dass die Gährung bei Fernhaltung der Luft ausbleibt. Leube[6]) bemerkte, dass frischer normaler Harn keine Pilze enthält, und dass beim Hinstellen von Harn an verschiedenen Orten die Gährung zu verschiedenen Zeiten eintritt, je nach der Menge der Keime, die aus der Luft hineingelangen. Miquel[7]) fand die Keime in der Luft weit verbreitet.

Auch bei den Gährungen innerhalb der Blase werden wohl meist die Keime von aussen hineingelangen, z. B. durch Katheterisiren; doch hält Leube[8]) ein Eindringen durch Ausscheidung aus der Niere nicht für ausgeschlossen.

Dass indessen die blosse Anwesenheit der Coccen nicht zur Auslösung der Fermentation hinreicht, zeigten die Befunde von Guiard[1]), dass die Pilze in der gesunden Blase keine Gährung erzeugten. Die Pilze müssen also in der gesunden Blase schnell vernichtet werden, während sie bei Erkrankungen der Schleimhaut (Cystitis) einen geeigneten Nährboden finden.

---

1) Müller, J. prakt. Ch. **81**. 452 (1860).
2) Pasteur, C. R. **50**. 849 (1860).
3) van Tieghem, C. R. **52**. 210; **58**. 210 (1864).
4) Cazeneuve und Livon, C. R. **85**. 571.
5) Meissner, cit. n. Leube, l. c.
6) Leube, Zeitschr. f. klin. Med. III. 233 (1881) u. Virchow's Arch. **100**. 540.
7) Miquel, Bull. soc. chim. **29**. 387 (1878).
8) Guiard, Étude sur la transform. ammon. des urines. Thèse. Paris 1883, cit. n. Leube, l. c.

Miquel[1]) fand ausser dem „Micrococcus urinae" noch einen Bacillus ureae, der Erhitzen auf 90° verträgt, sowie später[2]) noch andere Urococcen, Urobacillen und eine Urosarcine. v. Jaksch[3]) fand polymorphe Bacterien, deren beste Thätigkeit sich bei ca. 33° entfaltet, und die zu ihrem Gedeihen eines Nährbodens bedürfen, der Phosphor, Schwefel, Kalium, Magnesium, sowie Harnstoff oder eine Anzahl anderer organischer Substanzen, z. B. Bernsteinsäure, Traubenzucker etc. enthält. Sie brauchen ferner freien Sauerstoff.

Leube[4]) hat dann in sehr exacter Weise, unter Anwendung reinen, ammoniakfreïen, sterilisirten Harnstoffs die Bedingungen der Harnstoffgährung genau untersucht. Er züchtete die in ammoniakalischen Harnen auftretenden Bacterien in Reincultur und erhielt so acht bis zehn Arten, von denen sich vier als wirksam erwiesen, besonders ein Microcococcus ureae und ein Bacterium ureae.

Proteus erwies sich als unwirksam, wirksam dagegen war Lungensarcine. Dagegen fand Brodmeier[5]) den Proteus vulgaris sehr wirksam. Einen Urobacillus Schützenbergii beschreibt Cambier[6]).

Das Enzym der Harnstoffgährung (Urease). Ein ungeformtes Ferment, das dieselbe harnstoffspaltende Wirkung hat, wie die besprochenen Pilzfermente, fand Musculus [7]) im Harn, und zwar besonders dem dickflüssigen, schleimigen, ammoniakalischen Cystitisharn. Durch Fällen dieses Schleimharnes mit Alkohol erhielt er das Enzym in trockenem Zustande und konnte es lange aufbewahren. Es wurde durch Säuren und Erwärmen auf 80° zerstört, dagegen durch Phenol nicht beeinträchtigt. Es wirkt ganz specifisch nur auf Harnstoff, den es in Ammoniak und Kohlensäure spaltet.

Es wirkt nach Ladureau[8]) auch im luftleeren Raum, bei 3 Atmosphären Druck, bei Gegenwart von Stickstoff, Wasserstoff, Kohlensäure etc.

Lea[9]) konnte das Ferment nur aus dem schleimigen Bodensatz des Cystitisharns, nicht aber aus dem davon decantirten und filtrirten Harn durch Alkoholfällung erhalten. Es ist indiffusibel. Im Uebrigen bestätigt er die Angaben von Musculus. Pasteur und Joubert[10])

1) Miquel, Bull. soc. chim. 31. 391; 32. 126 (1879).
2) Miquel, Annal. de Micrograph. I, II, III, V, cit. n. Flügge, Die Microorgan. 1896. VIII, IX, c. n. Koch's Jb. 1896; 1897.
3) v. Jaksch, Z. phys. Ch. V. 395.
4) Leube, Virch. Arch. 100. 540.
5) Brodmeier, C. f. Bact. XVIII. 380 (1895).
6) Cambier, Ann. d. Microgr., cit. n. Koch's Jahrb. 1893. 285.
7) Musculus, C. R. 78. 132 (1874); Pflüg. Arch. XII. 214.
8) Ladureau, C. R. 99. 877 (1884).
9) Lea, Journ. of physiol. VI. 136.
10) Pasteur und Joubert. C. R. 83. 5 (1876).

weisen nach, dass das Enzym nur dann sich findet, wenn die harnstoffzersetzenden Pilze vorhanden sind, und nehmen an, dass diese Pilze das Ferment produciren. Nach Lea ist es an die lebenden Zellen fest gebunden, da das Filtrat dieses Bodensatzes keine Wirkung ausübt; erst wenn man die Zellen durch Alkohol tötet, wird das Enzym frei und durch Wasser ausziehbar. Nach Beyerinck[1]) ist es in Wasser unlöslich und fest an die Zellen gebunden.

Leube[2]) konnte durch Filtration seiner Reinculturen ebenfalls kein lösliches Ferment gewinnen. Die annähernde Isolierung der Urease gelang dann Miquel[3]) aus Reinculturen der verschiedenen Bacterien auf Peptonboullion, die Ammoniumcarbonat enthält, durch Sterilisirung mittelst Porzellanfilter, jedoch nur bei Sauerstoffabschluss. Moll[4]) stellte es aus Reinculturen von Micrococcus ureae durch Alkoholfällung dar. Es ist ausserordentlich leicht zersetzlich; schon bei 50° wird es in wenigen Stunden zerstört. Alkohol etc. und freier Sauerstoff wirken sehr schädlich, desgl. Toluol, Chloroform, nicht aber Fluornatrium in geringer Concentration (Moll). Sie ist giftig. Normales Serum und Harn hemmen die Wirkung. Ihr Optimum liegt bei 50°.

Ueber die Spaltung von Harnsäure in Ammoniumcarbonat unter dem Einfluss von Bacterien berichten Leone und Sestini[5]). Sie fanden, dass die ammoniakalische Gährung der Harnsäure durch dieselben Microben veranlasst wird, wie die des Harnstoffs. Gérard[6]) nimmt eine intermediäre Abspaltung von Harnstoff an (s. a. u. harnstoffbildendes Ferment).

Durch Immunisirung von Kaninchen gelang es Moll[4]), in ihrem Serum eine Antiurease zu erhalten, die specifisch hemmend wirkt, allerdings ziemlich schwach, und bei 65° unwirksam wird.

Zerfall von Calciumformiat. Eine eigenthümliche Reaction, die zwar von Bacterien ausgeübt wird, ihrem Wesen nach jedoch eine reine und echte Fermentation zu sein scheint, ist die Aufspaltung von ameisensaurem Kalk in kohlensauren Kalk und Wasserstoff (Popoff[7]), Hoppe-Seyler[8])).

---

1) Beyerinck, C. f. Bact. (2.) VII. 33 (1901).
2) Leube, Virch. Arch. 100. 540.
3) Miquel, C. R. 111. 397 (1890).
4) Moll, Hofm. Beitr. II. 344 (1902).
5) Leone und Sestini, Landwirthsch. Versuchsstat. 38. 157 (1891).
6) Gérard, Soc. Biol. 48. 516 (1896).
7) Popoff, Pflüg. Arch. X. 142.
8) Hoppe-Seyler, Pflüg. Arch. XII. 1.

Sie geht nach der Formel

$$\begin{matrix} HCOO \\ HCOO \end{matrix} \Big\rangle Ca + H_2O = CaCO_3 + CO^2 + 2H_2$$

vor sich. Dieser Process hat positive Warmetönung, ist also exothermal[1]; als echter Fermentprocess documentirt er sich ferner dadurch, dass er von dem Leben der Bacterien unabhängig ist, also auch nach dem Tode der Microben (z. B. durch Aether) fortdauert.

Ein Ferment, das Taurocholsäure und Hippursäure hydrolytisch spaltet, scheinen manche Bacterien abzusondern. Die Spaltung tritt auch ein, wenn die Bacterien durch Aether getötet sind (Hoppe-Seyler).

Auch in Organextracten (s. b. Autolyse) finden sich Enzyme, die Hippursäure spalten, die z. B. von Jacoby[2]) in Leberextracten aufgefunden worden sind.

---

1) s. b. Berthelot, C. R. 59. 901 (1864).

2) Jacoby, Z. phys. Ch. 30. 148 (1900).

Einundzwanzigstes Capitel.

Die Milchsäuregährung.

Die Milchsäurebildung interessirt uns nur insoweit, als sie ein fermentativer Process ist. Die näheren Details der eigentlichen Gährungsvorgänge kann ich hier nicht geben[1]).

Die Entstehung von Milchsäure aus Zuckern ist zwar schon lange beobachtet, wurde aber in den älteren Perioden einfach mit den übrigen sauren Gährungen zusammengeworfen.

Später erkannte man dann allerdings, dass unter gewissen Bedingungen aus zuckerhaltigen Flüssigkeiten, z. B. Rübensaft, Fruchtsäften, Milch etc. durch spontane Gährung Milchsäure entsteht[2]); es bot indessen grosse Schwierigkeiten, stets das gewünschte Resultat zu erzielen, während sehr häufig unbeabsichtigte und störende Processe anderer Art die Milchsäurebildung verdeckten oder hinderten. Bevor man zu der Isolirung der specifischen Microben gelangen konnte, war das Studium dieser Erscheinung also sehr mühselig. Boutron und Frémy[3]), welche wohl mit als die ersten sich genauer mit der Milchsäuregährung beschäftigt haben, fassten das Ferment im Liebig'schen Sinne auf und mussten demzufolge bei dem so häufigen Misslingen der Versuche, reine Milchsäuregährungen zu erzielen, eine Variabilität des Ferments annehmen, das je nach den Umständen bald Milchsäuregährung, bald Processe anderer Natur auslösen könnte.

Pasteur[4]) zeigte dann, dass Alkoholgährung und Milchsäuregährung durchaus von einander zu trennende Processe sind.

Später klärten sich die Ansichten darüber. Wir wissen jetzt, dass auch die Milchsäuregährung im Connex steht mit der Anwesenheit lebender Microorganismen, und dass man bei Anwendung von Reinculturen alle jene störenden Nebenprocesse vermeiden kann.

---

1) Näheres s. b. Emmerling, Die Zersetzg. stickstofffreier Subst. Braunschweig 1902.

2) s. z. B. Braconnot, Ann. Chim. Phys. 36. 116. Gay-Lussac und Pelouze, Ann. Chim. Phys. 52. 410 (1833).

3) Boutron und Frémy, Ann. Chim. Phys. (3.) II. 257 (1841).

4) Pasteur, Die Alkoholgährg, l. c. S. 38.

Die Mikroben der Milchsäuregährung wurden zuerst von Blondeau[1]) gesehen, aber in ihrer Bedeutung nicht erkannt. Dann war es besonders Pasteur[2]), der die Organismen genauer studirte. In Reincultur stellte sie zuerst Lister[3]) dar. Den lange vergeblich angestrebten Beweis, dass Milch bei Luftabschluss steril erhalten werden kann, erbrachten Roberts[4]) und Meissner[5]). Dann ist die biologische Seite der Frage mit Hilfe der Koch'schen Methoden von Hueppe[6]) grundlegend bearbeitet worden, worauf wir unten zurückkommen werden.

Der Chemismus der Reaction ist im Wesentlichen ein sehr einfacher. Aus den Hexosen bildet sich Milchsäure nach der Formel

$$C_6H_{12}O_6 = 2C_3H_6O_3$$

durch glatte Spaltung. Wir haben also hier einen Fall vor uns, wo in dem Endresultat der Reaction der Aufnahme der Elemente des Wassers keine ersichtliche Rolle zusteht, so dass wir diesen Process nicht ohne weiteres den hydrolytischen Spaltungen zuschreiben dürfen. Indessen rechnet man ziemlich allgemein trotzdem die Milchsäuregährung zu den hydrolytischen Processen, indem man eine intermediäre Aufnahme von Wasser annimmt, und so können auch wir sie mit Vorbehalt dazu stellen.

Die **Zymase der Milchsäuregährung.** Die Zurechnung der Milchsäuregährung zu den Fermentprocessen, die wir in der ersten Auflage dieses Buches vertreten haben, hat in neuester Zeit ihre definitive Bestätigung dadurch gefunden, dass es E. Buchner und Meisenheimer[7]), sowie Herzog[8]) gelang, aus Milchsäurebacterien das supponirte Enzym darzustellen. Es gelang ihnen durch Abtöten der Hefe mit Aceton und Auspressen der zerriebenen Zellen einen zellfreien Presssaft zu gewinnen, der beträchtliche Mengen Milchsäure bildet.

Die entstehende Milchsäure ist fast stets die α-Oxypropionsäure

$$CH_3 . CHOH . COOH.$$

Nur Hilger[9]) erhielt einmal aus Inosit auch die β-Oxypropionsäure, die Aethylenmilchsäure $CH_2OH CH_2 . COOH$, die er durch

1) Blondeau, Journ. Pharm. Chim. XII. 244. 336. (1847)

2) Pasteur, C. R. 45. 913 (1857); 47. 224; 48. 337; s. a. Boutroux, C. R. 86. 615 (1878).

3) Lister, Pharmaceut. Journal VIII. 555 (1877/78).

4) Roberts, Philos. Transact. 164. 465 (1874).

5) Meissner, Göttinger Chir. Klin., cit. n. Hueppe, l. c.

6) Hueppe, Mitth. a. d. kaiserl. Gesundh.-Amt. II. 309 (1884).

7) Buchner und Meisenheimer, Chem. Ber. 36. 634 (1903).

8) Herzog, Z. phys. Ch. 37. 381 (1903).

9) Hilger, Ann. Chem. Pharm. 160. 336 (1871).

Oxydation zu Malonsäure identificieren konnte. Diese Angabe konnte aber Vohl[1]) nicht bestätigen.

Jedoch schwankt die Abart der entstehenden Aethylidenmilchsäure je nach der Natur des Erregers und des Substrates sehr erheblich.

Die häufigste „Gährungsmilchsäure" ist die racemische, inactive Form, jedoch entsteht auch häufig genug die r-Milchsäure, die Fleischmilchsäure des Muskels, deren Zinksalz linksdrehend ist[2]). Sehr nahe verwandte Arten auf demselben Nährboden bilden so verschiedene Säuren, dieselben Arten auf verschiedenen Nährböden ebenfalls.[3])

Man darf wohl annehmen, dass in diesen Fällen durch die primäre Fermentation zunächst stets die inactive racemische Säure gebildet wird, dass aber gewisse Microben unter bestimmten Bedingungen im Stande sind, die l-Milchsäure weiterhin zu verzehren, so dass nur die d-Säure zurückbleibt. Dass sie auch aus fertiger racemischer Milchsäure dies vermögen, steht fest (Frankland und Mac Gregor[4])). Die Entstehung von l-Milchsäure ist für einen Fall von Schardinger[5]) festgestellt worden. Er konnte durch Vereinigung mit r-Milchsäure die racemische Gährungsmilchsäure aus ihr darstellen.

Diese dient nach ihrer primären Entstehung als Nährstoff in der Weise, dass entweder beide optische Antipoden gleichmässig weiter verzehrt werden, dann restirt ein Ueberschuss von racemischer Milchsäure; oder die Zelle verzehrt nur die l-Componente, dann restirt d-Milchsäure als weiterhin nicht mehr angreifbares Gährungsproduct, resp. in einzelnen Fällen auch die l-Milchsäure. Die Microben scheinen unter günstigen Vitalitätsbedingungen eher im Stande zu sein, beide Componenten weiter zu verarbeiten, so dass stets racemische Milchsäure hinterbleibt; bei Schwächung ihrer Vitalität wird ihre Aufnahmefähigkeit je nach der Art für eine der beiden Componenten geringer, worauf Versuche von Peré[6]) an Colibacillen hinzudeuten scheinen.

Dass aber jedenfalls die Milchsäure nicht als das Endstoffwechselproduct der Lebewesen hinzustellen ist, ergiebt das stete Vorhandensein von Nebenproducten, auch bei Reinculturen, auf deren Bedeutung für eine Trennung der Fermentation vom vitalen Stoffwechsel wir bei der alkoholischen Gährung zurückkommen werden,

---

1) Vohl, Maly's Jb. 1876. 274.
2) s. z. B. Nencki und Sieber, C. f. Bact. IX. 304.
3) Litt. s. b. Emmerling, l. c. S. 42.
4) Frankland und Mac Gregor, Journ. Chem. Soc. 63. 1028 (1893).
5) Schardinger, Monatsh. f. Chem. XI. 545 (1890).
6) Peré, Ann. Inst. Pasteur. VI. 528 (1892); VII. 737 (1893).

sowie die von Haacke[1]) beobachtete Erscheinung, dass die Pilze die Milchsäure wieder zerstören. Zunächst entsteht natürlich als rein vitales, als Athmungsproduct der Lebewesen, Kohlensäure, die mit dem Fermentprocess als solchem nichts zu thun hat; ihre Entstehung ist von Hueppe[2]) und Adametz[3]) angegeben, von Leichmann[4]) allerdings für andere Microben geleugnet worden; daneben entstehen andere Producte, z. B. geringe Mengen Alkohol (Leichmann), Essigsäure (Haacke) etc.

Kuprianow[5]) hat dann auch nachgewiesen, dass der Zuckerverbrauch der Milchsäurebildung durchaus nicht parallel läuft, was wir so interpretiren, dass neben dem typischen Fermentprocess der wirkliche Stoffwechsel der Microben einhergeht, der von ihrer Natur und den Lebensbedingungen abhängt. Ferner giebt es Mittel, um zwar die Vermehrungsfähigkeit der Microben, nicht aber die Fermentation zu hindern, nämlich Metallsalze in sehr geringen Concentrationen (Chassevant und Richet[6])); wir können diese Thatsache in demselben Sinne deuten. Wir werden diese ganze Frage bei der so viel wichtigeren alkoholischen Gährung ausführlicher behandeln.

Substrat der Milchsäuregährung. Der typischen Milchsäurespaltung unter dem Einfluss des Ferments unterliegen alle einfachen Hexosen, besonders Glucose, Fructose, Galactose, indess auch Mannit etc., ferner auch Pentosen, nämlich die Rhamnose (Tate[7])).

Dagegen werden Rohrzucker, Milchzucker etc. wohl erst nach voraufgegangener Spaltung durch die besonderen Enzyme zu Milchsäure vergohren.

Biologie der Milchsäuregährung. Dass bei der Milchsäuregährung nicht ein bestimmt gerichteter Stoffwechsel bestimmter Microbenarten vorliegt, sondern die Production eines Fermentes, dem analog den von Microorganismen producirten anderweitigen Fermenten eine grosse Verbreitung zukommt, dafür zeugt auch die grosse Anzahl von Bacterien, die diese Fermentation bewirken.

Es kann hier nicht meine Aufgabe sein, alle die Bacterienarten aufzuzählen, die Milchsäureferment produciren[8]), sie finden sich zahl-

1) Haacke, Arch. f. Hyg. 42. 16 (1902).
2) Hueppe, Mitth. a. d. kaiserl. Gesundh.-Amt. II. 309 (1884).
3) Adametz, C. f. Bact. (2) I. 465 (1895).
4) Leichmann, Milchzeitg. refer. nach Cbl. 1894. 33; C. f. Bact. XVI. 826.
5) Kuprianow, Arch. f. Hyg. XIX. 282 (1893).
6) Chassevant und Richet, C. R. 117. 673 (1893).
7) Tate, Journ. Chem. Soc. 63. 1263 (1893).
8) Näheres siehe b. Emmerling, l. c., S. 30ff.

reich in allen Gruppen der Spaltpilze. Man kennt nicht nur Bacillen, sondern auch Coccen, Vibrionen und Sarcinen, die Milchsäure bilden[1]). Auch viele pathogene Spaltpilze, z. B. der Cholera, des Typhus, B. coli u. a. gehören dazu. Es ist also eine weit verbreitete Fähigkeit der Spaltpilze, unter bestimmten Bedingungen Milchsäure zu bilden.

Sie gähren in reinen Zuckerlösungen nicht, wohl aber kann ihnen Ammoniak in Form von Salzen als Stickstoffquelle genügen (Timpe[2])). Das beste Nährsubstrat scheinen Peptone zu sein.

Die einzelnen Milchsäure producirenden Lebewesen verhalten sich in Bezug auf Reichhaltigkeit der Production, sowie Empfindlichkeit gegen die entstehende Säure und gegen heterogene Beimengungen ziemlich verschieden, wie Kayser[3]) in einer umfangreichen Untersuchung dargethan hat. Es giebt sowohl obligat aërobe wie anaërobe Formen, andere sind gegen freien Sauerstoff indifferent. Die Culturen schwächen sich in ihrer Wirksamkeit ab.

Die meisten bilden auch Essigsäure, die häufig sogar wesentlich überwiegt und die Milchsäurebildung überwuchert.

Daneben entstehen noch Alkohol, Aceton etc. (Kayser[3])).

Bedingungen der Milchsäuregährung. Da das Milchsäureferment in sehr engem Connex mit dem Leben der Zelle steht, so ist es klar, dass seine Wirksamkeit durch alle Agentien vernichtet werden wird, die die Zelle vernichten. So wird es durch Alkalien, starke Säuren, sowie durch alle Protoplasmagifte, z. B. Schwermetallsalze etc., auch Fluorwasserstoff schon in 0,001 proc. Lösung (Effront[4])) unwirksam. Ganz geringe Mengen derselben, z. B. Kupfersulfat und Sublimat in 0,00005 procentiger Lösung sollen nach Richet[5]) fördernd wirken.

Das Optimum der Wirkung liegt bei 30—40 ^{0}, Erhitzen auf 60^0 wird kurze Zeit ertragen (A. Mayer[6])).

Pepsin ist ohne Einfluss (Hirschfeld[7])).

Besonders empfindlich sind die Milchsäurebildner gegen Säuren, vor allem Salzsäure[8]), aber auch Milchsäure selbst; bei einem Ge-

1) s. b. Flügge, Microorganismen. 1896. I. S. 232.

2) Timpe, Arch. f. Hyg. XVIII. 1 (1893).

3) Kayser, Ann. Inst. Past. VIII. 779 (1894). Dort ausführliche Litteraturangaben.

4) Effront, Bull. Soc. Chim. (3.) IV. 337 (1890).

5) Richet, C. R. **114**. 1494 (1892).

6) A. Mayer, Maandbl. f. Naturwetensch. 1892. Maly's Jb. 1892. 598.

7) Hirschfeld, Pflüg. Arch. **47**. 510 (1890).

8) s. u. A. Cohn, Z. phys. Ch. XIV. 75 (1890).

halt von 0,15 % sistirt die Gährung (Hayduck[1]); man muss deshalb, wenn man eine ausgiebige Gährung erzielen will, ein neutralisirendes Mittel zusetzen; am besten ist nach A. Mayer (l. c.) Calciumcarbonat. Zinkcarbonat ist nicht so gut, weil die Zinksalze giftig sind. In Milch ist die Empfindlichkeit geringer, was von Timpe[2]) dadurch erklärt wird, dass einerseits das Caseïn, andererseits die neutralen Phosphate einen Theil der entstehenden Säure binden. Aehnlich wirken auch Leim und Pepton säurebindend.

Milchsäureenzyme im thierischen Organismus.

Die Milchsäure findet sich stets in thierischen Organen, besonders im absterbenden Muskel, sowie mitunter auch im Harn.

Schon Dubois-Reymond[3]) hat diesen Vorgang der Milchsäurebildung im Muskel als einen Fermentprocess aufgefasst, besonders, weil die Säuerung durch Erhitzen frischer Muskeln verhindert werden kann, und Andere sind ihm darin gefolgt. Besonders Nasse[4]) hat die Milchsäurebildung genau untersucht und zahlreiche Analogien mit enzymatischen Wirkungen ans Licht gezogen.

Er nimmt eine hydrolytische Spaltung aus Zuckern an und findet, dass sie durch gewisse Salze in ganz specifischer Weise beeinflusst wird.

Z. B. wirken Sulfate bis zu 9 % befördernd auf die Milchsäurebildung, ebenso Kohlensäure.

Vor allem aber fand er, dass auch im zellfreien Wasserextract noch Säuerung eintritt, wie schon Kühne gezeigt hat.

Auch die Leber enthält schon in frischem Zustande Milchsäure, die beim Stehenlassen zunimmt. Magnus-Levy[5]) hat die Bildung von Milchsäure bei der aseptischen und antiseptischen Autolyse von Lebern genauer untersucht. Die aseptische Methode, nach dem Vorgang von Conradi[6]), verläuft viel schneller und ausgiebiger. Die Milchsäurebildung wird immer langsamer, weil die entstehende Säure die Fermente schädigt.

Ausser Rechtsmilchsäure und Gährungsmilchsäure fand Magnus-Levy ferner noch Bernsteinsäure, Ameisensäure, Essigsäure, sowie höhere flüchtige Fettsäuren. Ausserdem bilden sich noch H_2S, H und

1) Hayduck, Chem. Centr. 1887. 1042.
2) Timpe, Arch. f. Hyg. XVIII. 1 (1893).
3) Dubois-Reymond, Berl. Acad. Sitzb. 1859. 288.
4) Nasse, Pflüg. Arch. XI. 138.
5) Magnus-Levy, Hofmeister's Beitr. II. 261 (1902); (ältere Litt.).
6) Conradi, Hofmeister's Beitr. I. 136 (1901).

CO_2. Am wichtigsten und am sichersten auf Zuckerspaltung zurückzuführen ist dabei jedenfalls die Milchsäurebildung.

Wir können uns also sehr wohl die Vorstellung bilden, dass im abgestorbenen Muskel und anderen Organen, vielleicht indess auch intra vitam ein Ferment gebildet wird, ganz analog den diastatischen und oxydirenden Fermenten, welche sich aus thierischen Organen und Organextracten unter Ausschluss von vitalen Processen gewinnen lassen. Leider ist die Frage nach der Existenz eines solchen Fermentes experimentell noch wenig geprüft. Eigene Versuche, welche ich angestellt habe, haben zu wenig positives Material geliefert, als dass man sie mit Nachdruck verwerthen könnte. Ob im Muskelextract ein wirksames, unter Ausschluss von Fäulnisserregern Zucker in Milchsäure spaltendes Ferment vorliegt, habe ich nicht untersucht; dagegen habe ich einige Versuchsreihen darüber angestellt, ob nicht vielleicht das sog. glycolytische Ferment des Blutes, auf das wir späterhin genauer eingehen werden, aus dem Zucker Milchsäure bildet. In der That habe ich aus frischem Pferdeblut nur ganz minimale Mengen Milchsäure darstellen können, sehr wenig auch aus demselben Blut, das mit Toluol und 0,6 % Natriumfluorid 48 Stunden im Brutschrank gestanden hatte; relativ viel grössere Mengen dagegen, wenn ich das Blut mit dem fünften Theil einer 2 proc. Traubenzuckerlösung unter denselben Bedingungen stehen liess.

Leider musste ich aus äusseren Gründen diese Versuche abbrechen.

Soeben veröffentlichte Resultate von Stoklasa, Jelinek und Cerny[1]) scheinen nun thatsächlich meine vorläufigen Resultate zu bekräftigen, da ihnen der Nachweis eines echten milchsäurebildenden Enzyms in den thierischen Organen und im Blute gelungen ist. Sie konnten es aus den Organen nach der Buchner'schen Methode isoliren und erhielten ziemlich beträchtliche Mengen Milchsäure.

1) Stoklasa, Jelinek und Černy, C. f. Phys. XVI. 712 (1903).

Zweiundzwanzigstes Capitel.

Die alkoholische Gährung[1]).

Geschichtliches. Die ältere Geschichte der Umwandlung der gährfähigen Zucker durch die Hefe fällt durchaus mit der Geschichte der Fermentprocesse im Allgemeinen zusammen. War doch gerade dieser für die Praxis der Erzeugung alkoholischer Getränke so eminent wichtige Vorgang so recht der Typus der Fermentprocesse überhaupt, und wenn über das Thema im Allgemeinen discutirt wurde, so hatte man im Wesentlichen als Hauptrepräsentanten dieser Vorgänge die „weinige“ Gährung im Auge, neben der man noch nach dem Vorgange Stahl's die „faulige“ und „saure Gährung“ unterschied.

Man speculirte und untersuchte viel über die Natur der Hefe, deren Stickstoffgehalt man erkannt hatte, wobei besonders Fabroni, der sie mit dem Gluten identificirte, Thénard, Fourcroy u. A. zu nennen sind. Man fand, dass fast alle thierischen und pflanzlichen Stoffe die „Fermente“ der Alkoholgährung darstellen können.

Als dann durch die Auffindung der ungeformten Fermente der Kreis der zu untersuchenden Thatsachen wesentlich erweitert wurde, da versuchte es Liebig durch seine im „Allgemeinen Theil“ ausführlich besprochene Theorie die Gesammtheit der Fermentprocesse zu erklären. Nachdem aber durch die Arbeiten von Pasteur[2]) die grosse fundamentale Bedeutung kleiner pflanzlicher Lebewesen für eine grosse Anzahl von „fermentativen“ Processen ins hellste Licht gerückt war, wurde Liebig's energetische Auffassung, deren theoretische Fundirung schwerwiegende Mängel aufwies, durch die im Gefolge dieser Befunde sich ausbildende biologische Auffassung in den Hintergrund gedrängt. Wir haben gezeigt, dass man sich mit der Erklärung der Fermentprocesse dieser Gattung begnügte, indem man sie ohne Weiteres dem

1) Der Name stammt von Fourcroy 1787.

2) s. dar. Pasteur, Die Alkoholgährg. Dtsch. v. Griessmeyer. Stuttgart 1878 II. Aufl., S. 42, wo die ältere Geschichte dargestellt ist.

Lebensprocess des Microorganismus zuschrieb, auf jede energetische Umgrenzung und Begriffsbestimmung verzichtete und somit in dem „geformten“ Fermenten einen vollen Gegensatz zu den Enzymen schuf. Und in diesem Ideenkreise bildete wiederum die Alkoholgährung durch Hefen den Prototyp der Processe, die durch geformte Fermente ausgelöst wurden. Das dabei wirksame Ferment verschwand in dem vitalistischen Dunkel und konnte als solches nicht Gegenstand der Discussion sein. Man studirte mit grossem Eifer einerseits die Lebensbedingungen, sowie die Morphologie der Fermentträger, und untersuchte andererseits den Chemismus der Fermentwirkung.

Wenn wir nun die Frage der alkoholischen Gährung jetzt, wo wir durch Buchner's Versuche wissen, dass die Fermentwirkung vom Lebensprocess der Hefepilze losgelöst werden kann, als einen Theil der Lehre von den Fermentprocessen betrachten wollen, so ist zunächst sicher, dass wir dem Chemismus der Wirkung einen ebenso breiten Raum gewähren müssen, wie man dies früher nur je thun konnte.

Anders aber liegt die Sache bei der Discussion des biologischen Theiles unseres Capitels. Wenn wir von dem Standpunkt ausgehen, dass die Hefezellen nur die Mutterzellen des eigentlichen Fermentes sind, so werden wir der biologischen Schilderung dieser Organismen nur so viel Wichtigkeit für unser Thema beimessen, wie wir auch bei den ungeformten Enzymen uns morphologisch und biologisch mit den sie erzeugenden Zellen beschäftigt haben. Wir werden also auf einen ausführlichen Abriss der Naturgeschichte der Hefepilze verzichten, sondern diese nur streifen und nur insoweit ausführlicher behandeln, als sie eben mit dem Fermentprocess, sei es mit der Bildung oder der Wirkung des Ferments, zusammenhängt.

Die Frage z. B. nach der botanischen Stellung, der Ernährung, den Wachsthumsformen und -Bedingungen, der Vermehrung der Hefepilze etc. ist als solche betrachtet ein Theil der Botanik; nur insofern durch diese biologischen Momente die fermentative Wirkung beeinflusst wird, werden diese Fragen zu einem nothwendigen Bestandtheil unserer Besprechung.

Ausserdem kommt aber zu den beiden bisherigen umfangreicheren Capiteln jetzt noch ein drittes, die Frage nach dem Enzym als solchem. Wir haben damit also eine Dreitheilung unseres Themas: Natur und Darstellung des Enzyms, Chemismus der Wirkung und die Biologie der Enzymerzeuger.

Das alkoholisirende Enzym[1]. Wie wir bereits wiederholt auseinandergesetzt haben, galt bis in die jüngste Vergangenheit der Vorgang der alkoholischen Gährung als ein solcher, der untrennbar mit dem Lebensvorgang einer kleinen Anzahl niederer Pilze verbunden sei. Wenn auch vereinzelte Forscher annahmen, dass die alkoholisirende Function dieser Mikroben trotzdem auf die Thätigkeit von Enzymen zurückzuführen sei, die sich allerdings dadurch von anderen unterscheiden, dass sie aus der Zelle nicht isolirbar seien, war doch die überwiegende Majorität mit Pasteur der Meinung, dass die Alkoholgährung ohne weiteres ein rein vitaler, ein Stoffwechselvorgang der Pilze sei. Gerade, wie z. B. die Bildung von Kohlehydraten und Eiweissstoffen in höheren Pflanzen, so sollte die Alkoholbildung ein Lebensvorgang der Hefezellen sein.

Solange es nicht gelingen wollte, das Enzym der Alkoholgährung von dem Lebensprocess zu isoliren[2], so lange konnte eine experimentelle Lösung dieses für die ganze Auffassung der Fermentprocesse so wichtigen Problems nicht gegeben werden, und es stand Meinung gegen Meinung.

Nur wenige Befunde liegen vor, die sich im Sinne einer nicht bedingungslosen Zusammengehörigkeit von Gährthätigkeit und Leben [illegible] verwerthen lassen, so z. B. die interessante Beobachtung von [illegible][3], dass Blausäure wohl den Lebensprocess und die Entwickelung der Hefe völlig aufhebt, nicht aber auch ohne weiteres die [illegible]wirkung. Wenn beträchtlichere Hefemengen vorhanden sind, [illegible] durch Blausäure mit dem Lebensprocess auch die Neu[illegible] von Ferment unterbunden, nicht aber die Wirkung des bereits [illegible] aufgehoben. Andererseits deuten Angaben von de Bary[4] [illegible] man z. B. bei Mucorarten die fermentative Kraft [illegible] kann, ohne die Lebensfähigkeit zu zerstören. Immerhin [illegible] Thatsachen nicht ausreichend, um die herrschende Lehre [illegible] ebensowenig die Beobachtung von Rey-Pailhade[5], [illegible]procentiger alkoholischer Hefeauszug CO_2 abgiebt.

[illegible] eine wissenschaftliche That ersten Ranges, als vor [illegible] E. Buchner den Nachweis führte, dass es ein Enzym

[1] [illegible] Darlegung dieser ganzen Frage findet man in dem [illegible] und M. Hahn, „Die Zymasegährung. München 1903.

[2] [illegible] vergeblichen Versuche sei der von Lüdersdorff [illegible] erwähnt. Er giebt an, dass Hefe durch Zerreiben [illegible]. Näh. s. Buchner, l. c. S. 13ff.

[3] [illegible] der Blausäure. Diss. Basel 1875.

[4] [illegible] Bacterien. Leipzig 1885. S. 65.

[5] [illegible] 118. 201 (1894).

giebt, das, losgelöst vom Lebensprocess, die Fähigkeit besitzt, Zucker in Alkohol und Kohlensäure zu spalten.

Buchner[1]) verfuhr dabei folgendermaassen:

1 Kilo Hefe wurde mit 1 Kilo Quarzsand und 2,3 Kilo Kieselguhr verrieben, um die Zellen zu öffnen, und dann in einem feuchten doppelten Presstuch einem Druck von 4—500 Atmosphären ausgesetzt. Dabei resultirte ein Presssaft. Der Rückstand wurde nochmals so behandelt, so dass schliesslich aus 1 kg Hefe 500 ccm Presssaft erhalten wurden. Er stellt eine schwach opalisirende, eiweissreiche Flüssigkeit von leicht saurer Reaction dar, die durch Chamberlandfilter (mit ziemlichen Verlusten) oder auch durch Papierfilter filtrirt wird, und nun das Enzym der Hefe, die Zymase enthält. Auch durch Zerreiben von Hefe mit festem Kohlendioxyd lässt sich wirksamer Presssaft erhalten, ferner auch wirksamer Saft ohne Pressung durch energische Plasmolyse der Hefe (feste Salze, Chloroform). Man kann diesen Presssaft vorsichtig bei gelinder Temperatur (nicht über 35°) zum Trocknen bringen, ohne dass er seine fermentative Kraft einbüsst. Auch in Glycerin ist diese Fähigkeit zu conserviren.

Die Zymase ist sehr unbeständig, sie verliert in Lösung nach wenigen Tagen ihre Wirksamkeit, was vor allem auf die schädliche Wirkung der Endotryptase (s. d.) zurückzuführen ist. Sie lässt sich aber in concentrirter Rohrzuckerlösung länger unzersetzt aufbewahren. Hefe, die durch jahrelanges Lagern getötet ist, enthält noch wirksames Ferment (Will[2])).

Bei 40—50° wird sie zerstört, indem gleichzeitig Gerinnung eintritt. Bei längerer Einwirkung tritt die Zerstörung schon bei niederer Temperatur ein. Dagegen ist sie gegen trockenes Erhitzen auf 85° nicht empfindlich. Sie diffundirt nicht durch Pergament.

Die besten Gährresultate werden in einer ca. 27 proc. Rohrzuckerlösung erzielt; in verdünnteren tritt die Gährung schneller ein, aber die Zymase geht auch schneller zu Grunde. Sie ist gegen Chloroform, Benzol, Toluol ziemlich beständig wie ein echtes Enzym; Natriumarsenit, das meist unschädlich ist, zeigt bisweilen einen schädlichen Einfluss, dessen Ursache noch nicht sicher aufgeklärt ist. Da diese Schädigung besonders in verdünnten Presssäften erkennbar wird, so nimmt E. Buchner an, dass im unverdünnten Saft die Eiweissstoffe schützend wirken; auch Zucker scheint so zu wirken. Zymase zersetzt H_2O_2; wie bei allen Fermenten hebt Blausäure diese Function auf,

1) E. Buchner, Chem. Ber. XXX. 117. 1110. 2668. XXXI. 209. 568. 1084. 1090. 1531. XXXII. 127 (1897—99), s. a. l. c. S. 20ff.

2) Will, Z. ges. Brauw. 1896. 20, cit. n. Buchner.

schädigt aber auch die Fermentwirkung. Formalin und Hydroxylamin schädigen (Wróblewski[1]), Alkohol hat keinen erheblichen Einfluss, selbst bei 15 % tritt noch Gährung ein. Ammoniumsalze stören wenig, desgleichen Natriumazoimid, wohl aber Fluoride.

Gegen proteolytische Fermente ist sie sehr empfindlich und wird deshalb in dem solche Enzyme enthaltenden Presssaft so schnell zerstört.

Gelindes Erwärmen (28—30°) steigert ihre Wirksamkeit, desgleichen schwach alkalische Reaction, die aber später hindernd wirkt; schwache Säuren verhalten sich umgekehrt, secundäre Phosphate wirken günstig.

Ausser aus Sacharomyceshefen sind Zymasen noch dargestellt worden aus Eurotiopsis Gayoni (Mazé[2]) und Sakehefe (Takahashi[3])).

Die Natur der Zymase. Durch die Buchner'schen Arbeiten ist es trotz aller Angriffe[4]) zur Evidenz erhoben, dass die Alkoholgährung kein vitaler Vorgang der Hefepilze ist, sondern dass hier ein Enzym wirksam ist.

Wenn man dieses Enzym, wie Manche wollen[5]), als „Protoplasmasplitter" oder derartiges bezeichnet, so ist das eine ebenso vage Vorstellung wie diejenige, die überhaupt den Fermenten „Reste von vitalen Kräften" oder ähnliche unfassbare Eigenschaften vindiciren will. Protoplasmasplitter, die durch Berkefeldtfilter gehen, ein trockenes Erhitzen auf 85° vertragen und durch Gifte, wie Aether, Chloroform und Arsen in ihrer Wirksamkeit nicht gehemmt werden, sind eben kein lebendes Protoplasma mehr und können als solche keine vitalen Functionen ausüben; solange nicht der Nachweis geführt ist, dass der Buchner'sche Presssaft lebende, vermehrungsfähige Zellen enthält, sind diese speculativen Einwände gegen Buchner's Anschauungen, die sich auf sorgfältig durchgeführte Versuche stützen, durchaus gegenstandslos. Die Thatsache ist aber unbedingt die, dass die Umwandlung von Zucker in Alkohol und Kohlensäure von einem löslichen Enzym ohne Anwesenheit lebender Zellen bewirkt wird.

Ob man sich dieses Enzym nun mehr oder weniger complicirt vorstellen will, und ob man dazu eine dem lebenden Protoplasma ähnliche chemische Natur annehmen will, steht um so weniger zur ernsten Discussion, als die bisherigen Untersuchungen über die Natur

1) Wróblewski, Centrbl. f. Phys. XIII. 284 (1899).

2) Mazé, C. R. 135. 113 (1902).

3) Takahashi, Bull. Coll. Agricult. Tokys IV. 395 (1902); Chem. Centr. 1902. II. 391.

4) Ueber diese s. b. Buchner, l. c.

5) Abeles, Chem. Ber. 31. 2261 (1898).

der Zymase noch sehr wenig an thatsächlichem Material ergeben haben. Buchner nimmt wohl mit Recht eine eiweissähnliche Natur für sie in Anspruch.

Dass das Ferment sich in manchen Beziehungen von anderen einfachen Enzymen unterscheidet (Neumeister, Wróblewski), ist vollkommen richtig. Sie zeigt sowohl in ihrem chemischen Verhalten, z. B. in ihrer weitaus grösseren Empfindlichkeit, als auch besonders in ihren Secretionsbedingungen bedeutende Differenzen von anderen Enzymen.

Aber diese Differenzen zeigen nur, dass sie ein Enzym besonderer Art ist, nicht aber kann man ihr deswegen, weil sie von den anderen Enzymen in gewissen Eigenschaften abweicht, überhaupt den Charakter des Enzyms absprechen, dessen Definition doch eine wesentlich energetische ist. Diese Bedingung erfüllt die Zymase vollständig, und deshalb ist sie ein Enzym, oder da wir diesen Terminus als einen principiell wichtigen nicht ansehen können, einfach ein Ferment. Dass sie, die am festesten mit dem Protoplasma zusammenhängt, auch im losgelösten Zustande am empfindlichsten ist, darf nicht Wunder nehmen; sehen wir doch, dass die Fermente, die eine Mittelstellung in der Festigkeit des Zusammenhangs einnehmen, wie die Invertase und die Urease, auch schon empfindlicher sind, als die einfach secernirten, wie Pepsin und Diastase. Buchner stellt sie demzufolge auch in nächste Beziehung zu der eigenthümlichen, auch nicht ohne Weiteres abtrennbaren Invertase der Monilia candida (s. d.).

Wir müssen also annehmen, dass die alkoholische Gährung bedingt ist durch ein von den Hefezellen producirtes Enzym, das aber im Gegensatz zum Pepsin etc. nicht im Ueberschuss frei secernirt wird, sondern, wenn überhaupt, stets nur in geringer Menge aus dem Zellleib herausdiffundirt, um sehr bald wieder vernichtet zu werden, wenn es seine specifische Wirksamkeit entfaltet hat. Solches Herausgehen lässt sich namentlich bei der energischen Plasmolyse der Hefe durch Salze, Chloroform, Aether etc. bewirken. Die Hauptwirkung bleibt aber eine Vergährung des in die Zelle hinein diffundirenden Zuckers. Theoretisch handelt es sich hier jedenfalls um einen echten Fermentprocess.

Versuche zur Isolirung der Zymase. Ausser den bereits erwähnten Trockenpräparaten sind noch verschiedene andere Methoden angewendet worden, um zunächst zymasereichere Säfte zu erzielen.

Auf sehr einfache Weise kann man durch Ausfrierenlassen einen Theil des Wassers entfernen. Trockenpräparate der Zymase

erzielten Buchner und Albert[1]) durch Alkohol-Aetherfällung. Am besten gelingt es, wenn man 50 ccm Presssaft unter heftigem Rühren in ein Gemisch von 400 ccm Alk. absol. und 200 Aether einträgt und schnell trocknet. Es resultirt ein weisses Pulver, das in Wasser nur theilweise löslich ist, besser in Glycerin. Diese Glycerinextracte sind sehr wirksam, vor allem, weil die schädliche Endotryptase vernichtet zu sein scheint. Weitere Versuche das Ferment zu isoliren, sind noch nicht bekannt geworden.

Sehr wichtig sind die sog. Dauerhefen, die Buchner und Albert sowie Rapp durch Anrühren lebender Zellen mit Alkohol-Aether[2]) resp. Aceton-Aether[3]) erhalten haben. Die Zymase bleibt hier in den toten Zellen wirksam, lässt sich aber nicht extrahiren und geht bei Anfeuchtung darin schnell zu Grunde. Diese Dauerhefe ist viel wirksamer als der Presssaft. Auch vorsichtiges Trocknen, besonders bei Luftabschluss und Erhitzen auf 110° giebt wirksame Präparate.

Der Chemismus der Reaction. Bis zu Lavoisier's Untersuchungen wusste man von dem chemischen Process der Gährung nichts weiter, als dass dabei Alkohol und Kohlensäure entsteht.

Lavoisier[4]) war der erste, der es versuchte, diesen Vorgang quantitativ zu verfolgen. Er nahm an, dass sich regelmässig Alkohol, Kohlensäure und Essigsäure bilden. War schon die letztere Annahme, wenigstens in dem Umfange einer Entstehung von Essigsäure, wie Lavoisier es glaubte, falsch, so scheiterte eine genaue Bestimmung der entstehenden Producte an der Mangelhaftigkeit der analytischen Methoden, die Lavoisier zur Verfügung standen. So kam es, dass Lavoisier eine durchaus falsche Gleichung für die alkoholische Gährung aufstellte, die nur deshalb eine Bedeutung erlangt hat, weil merkwürdiger Weise die einzelnen Fehler sich in der Weise compensirten, dass die Gesammtbilanz der entstehenden Producte ungefähr mit der verbrauchten Zuckermenge stimmte[5]).

Erst dadurch, dass durch genauere Untersuchungen die wirkliche Zusammensetzung des Zuckers selbst sowie des Alkohols erkannt wurde, ferner durch den Nachweis, dass Essigsäure kein normales Product der Alkoholgährung ist, wurde es möglich, die fehlerhafte

1) Albert und Buchner, Chem. Ber. 33. 266. 971 (1900).

2) Albert, Chem. Ber. 33. 3775 (1900).

3) Albert, Buchner u. Rapp, Chem. Ber. 35. 2576 (1902).

4) Lavoisier, Élém. d. chim. I. S. 139. (IIe édit.) Ann. d. Chim. II. 238 [illegible] XXXVI 116.

5) Genaueres darüber s. b. Kopp, Gesch. d. Chemie IV. S. 207, u. A. Mayer, Gährungschemie. Heidelb. 1895. S. 21.

Gleichung Lavoisier's durch eine bessere zu ersetzen. Dieser gewaltige Schritt vorwärts wurde von Gay-Lussac[1]) gethan, der eine Formel aufstellte, die in unsere heutige Formelsprache übersetzt lautet:

$$C_6 H_{12} O_6 = 2 CO_2 + 2 C_2 H_5 OH.$$

Gay-Lussac machte indessen noch den Fehler, dass er durch eine willkürliche Abänderung der Zahlen die Gleichung für Rohrzucker einstellte, während sie in Wirklichkeit für Traubenzucker gilt. Dieser Fehler wurde von Dumas und Boullay[2]) aufgedeckt, die die Gleichung dahin corrigirten und die weittragende Bemerkung machten, dass der Rohrzucker nicht gähren könne, ohne vorher ein Mol. H_2O aufzunehmen.

Diese Formel drückt den hauptsächlichen Verlauf der Reaction völlig genau aus. Freilich wird sie doch dadurch eingeschränkt, dass Alkohol und Kohlensäure nicht die einzigen Producte der Gährung sind, worauf wir noch zurückkommen werden.

Wenn man sich aber vorstellen dürfte, dass ein grosser Bruchtheil des Zuckers glatt in Alkohol und Kohlensäure zerfällt, während die Nebenproducte unabhängig davon aus anderen Zuckermengen entstünden, so wäre diese Formel durchaus berechtigt und einwandsfrei.

Wenn wir indessen das Schicksal der Gesammtzuckermenge quantitativ verfolgen, so stimmt diese Gleichung nicht.

Ein Theil des Zuckers wird nämlich, wie Pasteur nachgewiesen hat, der Fermentwirkung — in unserem Sinne — überhaupt dadurch entzogen, dass ihn die Hefe verzehrt und assimilirt, d. h. einen Theil des zur Vermehrung ihrer Masse nöthigen Kohlenstoffs aus ihm entnimmt.

Ein anderer Theil wird wahrscheinlich in einem von dem eigentlichen Fermentvorgang verschiedenen Process zu Nebenproducten umgebildet, so dass also nach dieser Auffassung nur ein Theil des Zuckers der echten alkoholischen Gährung im Sinne der angegebenen Formel unterliegt.

Dafür, dass die Bildung der Nebenproducte ein neben der eigentlichen Fermentation einhergehender Process ist, sprechen sehr wichtige Thatsachen, obwohl es mit Sicherheit nicht zu entscheiden ist.

So ist z. B. auch bei normalen alkoholischen Gährungen die Quantität der entstehenden Nebenproducte ziemlich verschieden und wird von äusseren Umständen beeinflusst. Besonders biologische Factoren, speciell solche, die die vitale Energie der Hefezellen beeinflussen, spielen dabei eine Rolle, wie wir unten sehen werden. Bei der sonst so constanten chemischen Natur der Fermentprocesse ist es damit viel wahrscheinlicher gemacht, dass die äusseren Factoren den

1) Gay-Lussac, Ann. de Chimie. 95. 311 (1815).
2) Dumas und Boullay, Ann. Chim. Phys. 37. 45 (1828).

Lebensprocess der Hefezellen beeinflussen, als den Fermentvorgang. Wir könnten uns demgemäss vorstellen, dass die Entstehung dieser Nebenproducte in den Bereich des Stoffwechsels der Organismen selbst gehörte, sie also typische Abscheidungsproducte darstellten, die natürlich je nach den biologischen Bedingungen etwas schwankende Zahlenverhältnisse zeigen würden. Sie wären damit ebenso wenig „Fermentproducte", Gährproducte in theoretischer Bedeutung, wie die Producte der zweifellos rein biologischen Umsetzungen, die der Hefenorganismus mit dem von ihm zur Ernährung verwendeten Zucker vornimmt, aus dem er die Stoffe seines Zellleibes: Cellulose, Fette, Proteïne etc. aufbaut, und die wir unter keinen Umständen als Gährproducte anerkennen können. Man sieht auch hier wieder, wie eminent auch praktisch wichtig die scharfe Trennung der fermentativen Function von den biochemischen Umsetzungen des fermenttragenden Organismus in seinem Protoplasma ist; und wir werden uns nicht wundern, dass es Pasteur nicht gelang, auch diese Umsetzungen mit in eine einheitliche Formel des Gährprocesses hineinzuziehen, und dass auch A. Mayer[1]) diese Frage in suspenso lässt. Es wäre praktisch natürlich am einfachsten, wenn man beweisen könnte, dass der eigentliche Fermentprocess sich auf die glatte Spaltung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure beschränkt. während alle übrigen Vorgänge, die quantitativ dagegen sehr zurücktreten, auf in demselben Medium einhergehende Stoffwechselvorgänge der Hefepilze zurückzuführen wären. Wir hätten dann das denkbar einfachste Schema: einerseits den typischen, an einem gegebenen Theil des Zuckers vor sich gehenden, stets gleichmässig verlaufenden Fermentprocess, andererseits den von biologischen Bedingungen abhängigen, und je nach diesen einen mehr oder minder grossen Bruchtheil des Zuckers als Nahrungsmittel beanspruchenden, zu secundären Umsetzungen führenden Lebensprocess der Fermentträger. Die Glycerinbildung als integrirenden Act der echten Gährung aufzufassen, lehnt E. Buchner (l. c. S. 32) ab, während dies sich bei der Bernsteinsäure noch nicht sicher erweisen lässt.

Aus dem Lebensprocess, nämlich der Athmung der Microben, folgt auch die Mehrbildung von Kohlensäure gegenüber der aus der Gährungsgleichung geforderten Menge, eine Thatsache, die schon Pasteur constatiren konnte.

Andererseits ist indessen auch die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, dass wenigstens die regelmässige, in nur geringen Grenzen schwankende Entstehung der beiden wichtigsten Nebenproducte, der

1) Mayer, l. c. S. 26.

Bernsteinsäure und des Glycerins, einem anderen Ferment, oder zwei anderen Fermenten, zuzuschreiben ist, die auch unabhängig vom Stoffwechsel diese specifischen Umsetzungen bewirken, ein Gedanke, dem z. B. von Duclaux[1]) Ausdruck verliehen worden ist. Delbrück[2]) weist nachdrücklich darauf hin, dass das Glycerin wohl durch Lipasewirkung aus den Fetten der Hefe entstanden sein kann.

Diese Frage lässt sich noch nicht sicher entscheiden. Jedenfalls aber müssen wir aus unseren Betrachtungen das Facit ziehen, dass keinesfalls die synthetischen Umsetzungen, die der Zucker innerhalb der Hefezelle erfährt, auf Rechnung des Fermentprocesses zu setzen sind, und dass unsere Ansichten über das Wesen des Fermentprocesses, rein theoretisch betrachtet, jedenfalls wesentlich an Klarheit gewinnen, wenn wir den Hauptprocess als einen einheitlichen betrachten, der glatt nach der Formel

$$C_6H_{12}O_6 = 2CO_2 + 2C_2H_5OH$$

vor sich geht.

Auch die Zymase bildet gleiche Mengen Alkohol und Kohlendioxyd.

Es entsteht dann die Frage, unter welche Kategorie von fermentativen Processen wir diesen Vorgang bringen dürfen. So ohne weiteres lässt er sich weder unter die hydrolytischen noch unter die oxydativen Spaltungen einreihen. Die Aufnahme der Elemente des Wassers spielt, wenn wir nur die Endzustände betrachten, überhaupt keine Rolle, wenn auch wohl angenommen werden darf, dass intermediäre Aufnahme und Abspaltung von Wasser dabei mitwirkt, da ja der Process ausschliesslich in wässeriger Lösung vor sich geht. Schematisch könnte man den Process definiren als einen inneren Oxydationsvorgang, bei dem allerdings kein freier Sauerstoff aufgenommen wird, sondern bei dem sich ein Theil des Molecüls auf Kosten des anderen Theiles bis zur höchsten Oxydationsstufe oxydirt. Es tritt dabei durch intermediäre Verschiebungen des Sauerstoffes eine Cumulation desselben an einer Stelle des Molecüls ein, die dann zum Zerfall desselben führt (Baeyer[3])).

Buchner schafft für die Fermente vom Zymasetypus eine eigene neue Kategorie der gasbildenden „Gährungsenzyme“, was wohl am zweckmässigsten ist.

---

1) Duclaux, Ann. Inst. Pasteur. XI. 348 (1897).
2) Delbrück, Woch. f. Brauerei 1903. Nr. 7. S.-A.
3) Baeyer, Chem. Ber. III. 73 (1870).

Bei dem Gährungsvorgang wird Wärme frei, er kann also spontan eintreten. Dies geschieht auch, obzwar in geringer Ausdehnung, bei Luftabschluss im Sonnenlicht, indem sich Alkohol und Kohlensäure aus Zucker bilden (Duclaux[1])).

Bei der enzymatischen Vergährung scheint wie bei anderen Enzymen keine restlose Verarbeitung des Zuckers einzutreten, sondern sich ein Gleichgewichtszustand auszubilden; Buchner fand in einem Versuche dass ca. 15 % des Zuckers der Vergährung durch Zymase entgangen waren.

Die Nebenproducte. Während, wie gesagt, die regelmässig in überwiegender Menge bei dem Gährprocess entstehenden Producte Alkohol und Kohlensäure sind, entstehen daneben als constante Producte vor Allem Glycerin und Bernsteinsäure, die auch bei Gährung mit Hefereinculturen auftreten, also nicht etwa fremden Microben ihre Entstehung verdanken[2]).

Pasteur[3]) gelang der Nachweis dieser Stoffe im Jahre 1858 und zugleich die Reindarstellung aus dem Gährgemisch.

Sein Verfahren beruht im Wesentlichen darauf, dass er die Flüssigkeit von der Hefe abfiltrirt, durch sehr langsames Eindampfen von Alkohol und Kohlendioxyd befreit und den Rückstand mit einem Alkohol-Aethergemisch extrahirt, in dem sowohl Glycerin als auch Bernsteinsäure löslich sind; die Bernsteinsäure wird dann in das Kalksalz übergeführt, durch nochmaliges Ausziehen mit Alkohol-Aether das Glycerin entfernt und die Bernsteinsäure als krystallisirtes Kalksalz gewonnen. Das Verfahren wurde dann u. A. von Fitz und Clausnitzer[4]) (für die Glycerinbestimmung) modificirt.

Pasteur fand, dass die gebildeten Glycerinmengen bei normalen Gährprocessen zwischen 2,5—3,6 %, die der Bernsteinsäure zwischen 0,4—0,7 % des vergohrenen Zuckers schwankten.

Pasteur hat versucht, auch den Antheil, den diese constanten Nebenproducte an dem Processe haben, in einer umfassenderen Formel zu berücksichtigen. Wir haben schon oben dem Gedanken Raum gegeben, dass es wohl in Verfolgung unserer theoretischen Erwägungen [illegible]entsprechender wäre, diesen Vorgang von dem eigentlichen Fermentprocesse zu trennen und ihn entweder einem parallel gehenden [illegible] Fermentvorgang oder dem Stoffwechsel der Ferment[illegible] schlechthin zu überweisen.

[illegible] sind die zahlenmässigen Schwankungen des Gehaltes an [illegible] und Bernsteinsäure nur gering, aber doch einmal nach-

1) [illegible] Ann. Past. X. 168 (1896).
2) [illegible] Microorg. 1896. S. 226.
3) Die Alkoholgährung, l. c. S. 9 (s. u.).
4) [illegible] und Hilger, Arch. f. Hyg. VIII. 451.

weisbar; sie sind aber vor Allem in grossem Umfange abhängig von Factoren, die die biologischen Qualitäten der Hefe besonders beeinflussen[1]). Pasteur selbst hat schon hervorgehoben, dass je langsamer der Gährprocess verläuft, um so mehr Nebenproducte entstehen. Ferner giebt A. Mayer[1]) an, dass in neutralen Gährgemischen, die der Hefe weniger „zuträglich" sind, als schwach saure, ebenfalls mehr davon gebildet wird. Dafür sprechen weiterhin auch Befunde von Effront[2]) und Brefeld[3]), dass sie dort besonders hervortreten, wo schwache Gährungsprocesse obwalten, z. B. in den letzten Stadien der Hefegährung und bei Mucor-Gährungen. Dagegen bildet Hefe, die an Na F „gewöhnt" ist, nach Effront[4]) weniger Glycerin.

Alle diese Thatsachen könnte man wohl in dem Sinne deuten, dass eben dort, wo die fermentative Function der Hefe relativ zurücktritt, während die vitalen Energieumsetzungen, der Stoffwechsel, absolut der gleiche geblieben oder weniger in ungünstigem Sinne beeinflusst ist, der fermentative Hauptprocess benachtheiligt erscheint gegenüber den andersartigen Umsetzungen, die zur Bildung der Nebenproducte führen. Prägnant dafür ist das angeführte Beispiel, dass Pilze von geringerer fermentativer Kraft, wie die Mucorarten, relativ mehr Nebenproducte erzeugen. Besonders interessant aber ist der Befund von v. Udranszky[5]), dass sich Glycerin ohne Kohlensäureentwicklung beim Absterben der Hefe bildet und unter ähnlichen Umständen, bei denen jeder Gährprocess sich ausschliessen lässt, besonders auch in zuckerfreien Nährböden.

Mach und Portele[6]) geben an, dass gelüftete Hefe mehr Glycerin producirt, als die des Sauerstoffes entbehrende, obwohl die Fermentthätigkeit der Hefe bei reichlicher O-Zufuhr schwächer ist. Dazu kommt, dass nach Rau[7]) die Bernsteinsäurebildung zahlenmässig von der Glycerinbildung unabhängig ist. Es bildet sich bei niederer Temperatur (also bei Abschwächung des Stoffwechsels) weniger Glycerin, bei überschüssiger Nahrungszufuhr mehr; die Bernsteinsäurebildung wird indess dadurch nicht wesentlich beeinflusst.

Glycerin entsteht bei der Zymasegährung sicherlich nicht; für die Bernsteinsäure ist der Nachweis noch nicht geführt.

1) A. Mayer, l. c. S. 28.
2) Effront, C. R. **119**. 92 (1894).
3) Brefeld, Landwirthsch. Jahrb. **1876**. 281.
4) Effront, C. R. **119**. 169 (1894).
5) v. Udransky, Z. phys. Ch. XIII. 539.
6) Mach und Portele, Landwirthsch. Versuchsstat. **41** (1892).
7) Rau, Archiv f. Hyg. XIV. 225 (1892).

Ausser Glycerin und Bernsteinsäure findet sich auch bei normalen Gährprocessen stets eine sehr geringe Menge — ca. 0,05 Proc. — Essigsäure (Duclaux[1])). Auch ihre Menge ist so gering, dass man ihre Entstehung wohl kaum dem eigentlichen Fermentprocess als primäres Product zuschreiben darf, und auch sie wächst sofort bedeutend, sobald durch pathologische Vorgänge die biologischen Qualitäten der Hefe beeinflusst werden. Auch ist es nur durch Anwendung ganz besonderer Vorsichtsmassregeln zu vermeiden, dass sich mehr Essigsäure secundär aus dem entstandenen Alkohol bildet, so dass praktisch auch normal vergohrene Getränke, z. B. Weine, mehr als 0,1 Proc. Essigsäure enthalten[2]).

Auch Zymase bildet geringe Mengen flüchtiger Säuren.

Von anderen Beimengungen fand Pasteur selbst einen sehr geringen Rest stickstoffhaltiger Substanz, den er nicht untersucht hat. Claudon und Morin[3]) fanden noch, allerdings nicht bei Gährprocessen von zweifelloser Reinheit, geringe Mengen Amylalkohol und eine andere Substanz, die sie für Isobutylenglycol $(CH_3)_2$ C(OH) · CH_2 OH halten, sowie Spuren anderer Stoffe.

Ausserdem giebt Mayer mit Recht an, dass man jedenfalls annehmen muss, dass jede specifische Hefe, wenn auch oft in sehr geringer Menge, besondere Geschmacks- und Geruchsstoffe erzeugen muss, die den einzelnen Getränken ihren charakteristischen Werth verleihen. Alle diese Nebenprocesse dürfen wir wohl ohne weiteres als solche betrachten, die von dem eigentlichen Fermentvorgang unabhängig und dem Lebensprocess der Hefen zuzuschreiben sind.

Solche Stoffe sind z. B. Spuren von Aldehyd (Roeser[4])), besonders bei Luftzutritt, Acetal, sodann die höheren Alkohole (Fuselöle) in Spiritusgährgemischen (Lindet[5])), Furfurol und die Bouquetstoffe der Weine, die aus Säureestern und Aethern sich zusammensetzen.

Das Substrat des Gährprocesses. Als theoretisch wichtigste Feststellung bei der Untersuchung, welche Zucker der alkoholischen Gährung fähig sind, ergiebt sich der Satz, dass überhaupt nur Zucker mit sechs und neun Kohlenstoffen einer Einwirkung des alkoholbildenden Ferments zugänglich sind (E. Fischer[6])). Die Triose, die durch Oxydation des Glycerins als ein Gemisch von Glycerinal-

1) Duclaux, cit. n. A. Mayer, l. c. S. 29.
2) A. Mayer, l. c. S. 30, vgl. dagegen Maumené, C. R. 57. 398 (1863).
3) Claudon und Morin, C. R. 104. 1109 (1887).
4) Roeser, Ann. Inst. Pasteur. VII. 41 (1893).
5) Lindet, R. R. 107. 182 (1888); 12. 102 (1891).
6) Fischer, Chem. Ber. 23. 2137 (1890).

dehyd $CH_2OH \cdot CHOH\,CHO$ und Dioxyaceton $CH_2 \cdot OH \cdot CO \cdot CH_2 \cdot OH$ entsteht, galt auch als gährfähig, doch wird dies von Emmerling[1]) mit gutem Grund angezweifelt, der fand, das frische Glycerose nicht gährt, sondern erst erwärmte, so dass man wohl besser hier die Condensation zu einer gährfähigen Hexose annimmt. Im Uebrigen ist sie und die verschiedenen Nonosen nur synthetisch zugänglich und ohne besondere praktische Bedeutung. Wichtig ist dagegen, dass die in der Natur so weit verbreiteten Pentosen (Arabinose, Xylose, Rhamnose etc.) der Gährung nicht unterliegen (Lindner[2])), sondern nur die Hexosen von der Formel $C_6H_{12}O_6$. Indessen finden wir auch hier die eigenthümliche Abhängigkeit fermentativer Processe von der sterischen Configuration. Von allen Aldehydzuckern gähren nur die d-Glucose (Traubenzucker), die d-Mannose und die d-Galactose, während z. B. die Gulose, Talose, Idose nicht gährfähig sind, ebenso wenig die l-Formen der genannten Zucker. Eine besondere Stellung nimmt die d-Galactose in dieser Beziehung ein. Sie ist gährfähig, jedoch nur von Hefen, die ihr angepasst sind (Dienert[3])), was bei den einzelnen Hefen mehr oder minder leicht, am ehesten bei Milchzuckerhefen zu erreichen ist. Diese Anpassung kann auch wieder aufgehoben werden, besonders durch energische Vermehrung und Züchten auf anderen Zuckerarten und durch Peptone. Aber auch angepasste Hefen vergähren die Galactose langsamer als Glucose, die ca. 1½ mal schneller zersetzt wird. Die Galactosegährung ist ferner gegen Alkohol empfindlicher. S. apiculatus soll Galactose gar nicht vergähren (Voit[4])). Von den Ketosen ist mit Sicherheit nur die d-Fructose als gährfähig erkannt; die Identität der ψ-Fructose Lobry de Bruyn's[5]), die ebenfalls gähren soll, ist noch nicht sichergestellt; dagegen ist die Sorbose und Tagatose sowie die l-Fructose nicht gährfähig.

Soweit lässt sich feststellen, in wie weit die Zucker dem alkoholisirenden Ferment der Hefe direct zugänglich sind. Indessen ist die Hefe auch im Stande höhere Kohlehydrate umzuwandeln. Wir haben in dem Capitel über sacharificirende Fermente ausführlich auseinandergesetzt, dass die Hefezelle ausser dem ihr adhärenten alkoholisirenden Ferment noch eine Reihe von Enzymen producirt, die die complicirten Kohlehydrate zunächst in Hexosen spalten und sie damit der eigentlichen Fermentwirkung zugänglich machen. Wir sahen, dass die Hefe

1) Emmerling, Chem. Ber. 32. 342 (1899).
2) Lindner, Woch. f. Brauerei XVIII. 713 (1900); Chem. Centrbl. 1901. I. 56.
3) Dienert, s. z. B. Ann. Inst. Past XIV. 139 (1900).
4) Voit, Z. f. Biol. 29. 149 (1892).
5) Lobry de Bruyn, Recueil des trav. chim. des Pays-Bas. 1897/98.

zunächst die Stärke durch Diastase, den Rohrzucker durch Invertase, die Maltose durch Maltase spaltet, und dass dementsprechend andere Enzyme die Trehalose, Melibiose etc. spalten können. Die meisten Hefen können Milchzucker nicht vergähren; es giebt aber andererseits besondere Hefen, die ein den Milchzucker spaltendes Enzym, die Lactase produciren und dann die gebildeten Spaltproducte, d-Glucose und d-Galactose, vergähren. Diesen Milchzuckerhefen fehlt merkwürdigerweise meist die Maltase, so dass sie Maltose nicht angreifen. Es scheinen sich also Maltase und Lactase in den Hefen zu vertreten. Auch andere, so S. Marxianus u. a. enthalten keine Maltase. Einige, wie z. B. Sacharomyces apiculatus und S. octosporus, enthalten keine Invertase, so dass sie Rohrzucker nicht angreifen können.

Die Polysacharide sind natürlich ebensowenig direct vergährbar. Die Thatsache, dass das bei der diastatischen Stärkespaltung entstehende Dextrin doch schliesslich zum grössten Theil vergohren wird (Barfoed[1]), will man durch eine langsame Einwirkung der Maltase erklären (s. dort). Glycogen wird nach Koch und Hosaeus[2]) nicht vergohren, dagegen die selteneren Polysacharide Helianthenin und Synarthrin, die Tanret[3]) in Topinamburknollen nachgewiesen hat.

Innerhalb der Grenzen der Vergährbarkeit zeigen sich noch Unterschiede in der Geschwindigkeit des Gährprocesses einzelner Hexosen. So gährt d-Fructose langsamer als d-Glucose und demzufolge Rohrzucker langsamer als Maltose[4]); auch bleibt bei dessen Vergährung naturgemäss der Verbrauch an Fructose etwas zurück, was man an der zu geringen Abnahme der Linksdrehung des Invertzuckers schon längst constatirt hat (Dubrunfaut[5])).

Die Zymase vergährt Glucose und Fructose gleichmässig; Galactose langsamer, greift Lactose, Arabinose, desgl. Raffinose, Dextrine, Stärke, Mannit etc. nicht an, Rohrzucker wird von ihr nach vorheriger Inversion durch die im Presssaft vorhandene Invertase vergohren. Hefepresssaft vergährt auch Glycogen, so dass die Nichtvergährbarkeit dieses Polysacharids durch lebende Hefe wahrscheinlich darauf beruht, dass es eben nicht in die Zelle hinein diffundiren kann (Buchner, l. c.).

1) Barfoed, Journ. f. prakt. Ch. N. F. VI. 334 (1872).
2) Koch und Hosaeus, C. f. Bact. XVI. 145 (1894).
3) Tanret, C. R. **117**. 50 (1893).
4) Jodlbauer, Zeitschr. d. V. f. Rübenzuckerind. **1888**. **308**., cit. n. A. Mayer, l. c.; s. a. Knecht, C. f. Bact. (2.) VII. 215 (1901).
5) Dubrunfaut, cit. n. Quévenne, J. prakt. Ch. XIV. 334; s. a. Bourquelot, Soc. Biol. **37**. 191. 221. 356 (1885).

Die Geschwindigkeit der enzymatischen Spaltung der Polysaccharide steht in keinem constanten Verhältniss zu der Geschwindigkeit der Vergährung, sondern dieses Verhältniss ist bei den einzelnen Hefearten stark wechselnd.[1])

Physikalische Bedingungen der Gährung. Die Gährung verläuft am besten bei ungefähr 25°, doch ist die Optimaltemperatur nach äusseren Bedingungen schwankend.

Schon bei unterhalb 53° erlischt die Gährung; bei untergährigen Hefen bisweilen schon bei 38°, findet dagegen noch bei ca. 0° statt. Die Optimaltemperaturen sind bei Ober- und Unterhefen verschieden.[2]) Trockene Hefe verträgt ganz gewaltige Temperaturextreme, von — 113° (Bert[3])) bis zu ca. 100°.

Die Dauer der Vergährung ist nach Dumas[4]) annähernd der vorhandenen Zuckermenge proportional, nach A. Brown[5]) jedoch nur bei Concentrationen von 10—12 %; bei höheren und niederen wird weniger vergohren. Ihren zeitlichen Verlauf hat Cochin[6]) dadurch gemessen, dass er fortlaufend die entwickelten Kohlendioxydmengen bestimmt hat. Er fand, dass die Gährung überhaupt erst nach 10—20 Minuten beginnt, was mit der langsamen Diffusion durch die Zellmembranen zusammenhängen soll. A. Brown[5]) hat dann die Curve der Gährungsentwicklung abgeleitet und findet, dass sie sich von der Curve gewöhnlicher chemischer Umsetzungen beträchtlich unterscheidet. Nach Versuchen von Herzog[7]) folgt die Geschwindigkeit der Vergährung annähernd genau der Formel $k = \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$. Wird die Anfangsconcentration bei gleicher Fermentmenge verkleinert, so wird ka grösser. Die Constanten verhalten sich wie die Quadrate der Fermentconcentration. Der Einfluss der Temperatur lässt sich nach der van t'Hoff-Arrhenius'schen Formel $\ln \frac{k_1}{k_2} = \frac{AT_1 - T_2}{T_1 \cdot T_2}$ berechnen.

Die Diffusion spielt nach Brown (l. c.) und Gayon und Dubourg[8]) bei der Gährung, wenn überhaupt, nur eine sehr geringe Rolle, da die Zucker nicht im Verhältniss ihrer Diffusionsfähigkeit vergohren werden. Guter Presssaft giebt nach Buchner in 60 % Rohr-

1) Hiepe, ref. von Duclaux, Ann. Inst. Past. XI. 348. (1897).
2) A. Mayer, l. c. S. 149.
3) Bert, C. R. 80. 1579.
4) Dumas, Ann. Chim. Phys. (5.) III. 57. (1874).
5) A. Brown, Journ. Chem. Soc. **61.** 369 (1892).
6) Cochin, C. R. 96. 852 (1883).
7) Herzog, Z. phys. Ch. 37. 149 (1903).
8) Gayon und Dubourg, C. R. **110.** 865 (1890).

zuckerlösung bei 28° in einer Stunde das 1 ½—2 ½ fache seines Volumens an Kohlendioxyd.

Auf den Einfluss anderer physikalischer und chemischer Agentien auf den Gährprocess können wir erst im biologischen Theile unseres Capitels eingehen, da diese Frage von der Behandlung der biologischen Bedeutung dieser Agentien nicht zu trennen ist.

Die Wärmetönung der Alkoholgährung. Die Alkoholgährung ist ein exothermer Vorgang. Dubrunfaut[1]) fand, dass der Wärmezuwachs bei der Gährung in einer 12 proc. Zuckerlösung demjenigen gleich ist, der diese Lösung um 14° C. erwärmen würde = 0,134 von derjenigen Wärme, die der Kohlenstoff der entstehenden Kohlensäure bei directer Verbrennung ergeben würde. Berthelot[2]) schätzte die positive Wärmetönung der Gährung auf $^1/_{15}$ derjenigen, die dieselbe Zuckermenge liefern würde, wenn man sie völlig verbrennt.

Fitz[3]) hat dann zuerst die Fehler, die in diesen ersten Untersuchungen dadurch gemacht waren, dass man den positiven Zuwachs der Lösungswärme des Zuckers, sowie der Mischungswärme des Alkohols, andererseits den negativen Einfluss der verbrauchten Energie beim Entweichen der Kohlensäure nicht berücksichtigt hatte, zu vermeiden gesucht, indem er alle diese Grössen in Rechnung stellte.

Er fand, dass eine 18 proc. Zuckerlösung um 21° bei der Vergährung erwärmt wird, dass davon aber 6° auf die positiven Wärmetönungen ausserhalb des eigentlichen Gährvorganges entfallen. Auch bei der Zymasegährung wird Wärme frei.

van t'Hoff hält es für möglich, dass unter gewissen Bedingungen auch dieser Vorgang umkehrbar sein könnte, wenn nämlich der Partialdruck der Kohlensäure einen Grenzwerth überschreitet. Bei einem derartigen Vorgang müsste also Wärme von aussen zugeführt werden. Buchner deutet an, dass die energieübertragenden Chlorophyllkörnchen etwas derartiges bewirken könnten.

Alkoholisirende Fermente unabhängig von der Hefe. Alkoholisirende Enzyme kommen auch in anderen lebenden Zellen vor. Schon lange bekannte Beobachtungen sprachen dafür, ohne dass es gelang, den definitiven Nachweis des Fermentes zu erbringen. Es tritt nämlich unter gewissen Umständen in lebenden Organismen eine Bildung von Alkohol und Kohlensäure auf.

1) Dubrunfaut, C. R. 42. 945 (1856).
2) Berthelot, C. R. 59. 904 (1864).
3) Fitz, Annal. d. Oenolog. II. 428, cit. n. A. Mayer, l. c. S. 161.

Besonders in höheren Pflanzen ist die Bildung von Alkohol dann beobachtet worden, wenn der Sauerstoff abgeschlossen wurde. Diese Thatsache ist von Rollo[1]) entdeckt und später wiederholt bestätigt worden.

Besonders haben sich dann Pasteur[2]), Müntz[3]), Traube[4]), sowie Lechartier und Bellamy[5]) mit der Frage nach der spontanen Entstehung von Alkohol und Kohlensäure in Pflanzen beschäftigt. Ersterer findet sich hauptsächlich bei Luftabschluss, also im Innern von Holzstämmen (Devaux[6]), Berthelot[7])), in Samen (Mazé[8])) etc. Erbsen geben bis 27 % ihrer Trockensubstanz Alkohol (Godlewski und Polzeniusz[9]).

Auch in abgeschlossenen Früchten findet sich häufig Alkohol vor (Dumont[10]), Döbereiner[11]), Gmelin[12]), doch muss man dabei in Betracht ziehen, dass trotzdem Pilze von der Oberfläche her eingedrungen sein können (Brefeld[13]). Kohlensäureentwicklung (ohne Alkohol) in Pflanzen bei Sauerstoffabschluss fanden Cahours[14]) in frischem Obst und Böhm[15]) an grünen Blättern, die unter Wasser gehalten wurden. Auch Effront[16]) glaubt Zymase in Kirschen nachgewiesen zu haben, hat aber nicht auf Alkohol geprüft.

Takahashi[17]) glaubt andererseits, dass die Alkoholbildung eine Function des lebenden Protoplasma ist, Zymase in Phanerogamen nicht existirt.

Andererseits bilden auch manche Pilze bei Sauerstoffabschluss in ihren Zellen Alkohol, z. B. Aspergillus (Pasteur), Penicillium,

---

1) Rollo, cit. n. Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Leipzig 1881. S. 363 (dort die ältere Litteratur).

2) Pasteur, C. R. 75. 1056 (1872).

3) Müntz, C. R. 86. 46 (1878).

4) Traube, Chem. Ber. VII. 885 (1874).

5) Lechartier und Bellamy, C. R. 69. 466 (1869); 75. 1204; 79. 949. 1006.

6) Devaux, C. R. 128. 1346 (1899).

7) Berthelot, C. R. 128. 1366.

8) Maze, C. R. 128. 1608 (1899); 130. 424 (1900).

9) Godlewski und Polzeniusz, Acad. Cracovie 1901. 227, cit. n. Buchner, l. c.

10) Dumont, Trommsdorff's Journ. f. Pharm. III. (2.) 563 (1819).

11) Döbereiner, Schweigger's Journ. f. Chem. 54 (1828). 418.

12) Gmelin, Handb. d. theoret. Chemie. 1829. II. 1103, cit. n. Döpping u. Struve, l. c.

13) Brefeld, Landw. Jahrb. 1876. 327.

14) Cahours, C. R. 58. 495. 635 (1864).

15) Böhm, Wiener Acad. 67. (1.) 211 (1873).

16) Effront, Les diastases, l. c. S. 302.

17) Takahashi, Bull. Coll. Agricult. Tokio V. Chem. Centrbl. 1902. II. 1330.

Botrytis, Oidiumarten (Brefeld[1])). Eng damit zusammenhängend ist auch die Thatsache, dass die Hefezellen sich selbst vergähren. wenn sie bei Sauerstoffabschluss in zuckerfreien Lösungen gehalten werden. Es treten dabei neben Producten proteolytischer Fermente (s. d.) auch Alkohol und Kohlensäure auf.

Buchner neigt der Ansicht zu, dass diese Alkoholbildung von der Anwesenheit einer Zymase abhängig ist und eine grosse physiologische Bedeutung besitzen mag.

Interessant ist auch die Mittheilung von Schunck[2]), dass bei der Krappgährung, der Spaltung der Ruberythrinsäure durch das Erythrozym (s. d.), eine Entstehung von Alkohol, Bernsteinsäure und Kohlensäure nachgewiesen werden kann. Wie Schunck selbst angab. sind allerdings die Versuche, die lange zurückliegen, nicht unter sicherem Ausschluss von Microben vorgenommen.

Auch im Thierkörper kommen alkoholähnliche Stoffe vor, die von Röhmann[3]) und Rajewski[4]), der Alkohol in Leber und Muskeln normaler Kaninchen fand, aufgesucht worden sind.

Da wenigstens die Möglichkeit vorlag, dass das zuckerzerstörende. glycolytische Ferment (s. d.) im Blut ein solches alkoholisirendes sein könne, da man bei seiner Wirkung Kohlendioxydabspaltung beobachtet hat, so habe ich in mehreren Versuchsreihen Zuckerlösung mit frischem Blut unter Ausschluss von Fäulniss stehen lassen und im Destillat stets eine sehr geringe Menge eines jodoformgebenden Körpers, der nicht Aceton war, nachweisen können; doch war auch das Controlblut (bei sofortiger Destillation) nicht völlig frei davon und eine nähere Untersuchung bei den minimalen Mengen unmöglich.

Genau dieselben unverwerthbaren Resultate erzielte Herzog[5]) bei Destillation von Blut und Pankreasextract plus Traubenzucker (s. b. glycolyt. Ferm.).

Weinland[6])[7]) beobachtete einen Gährungsprocess ähnlicher Art bei Eingeweidewürmern, bei dem sich aus Kohlehydraten vor allem Valeriansäure und Kohlensäure bilden, und der bei Abschluss von Sauerstoff verläuft. Auch die ausgepressten Extracte (nach dem Buchner'schen Verfahren) gaben ähnliche Reactionen, enthielten also ein Ferment, das

1) Brefeld, Landw. Jahrb. 1876. 327.
2) Schunck, Chem. Ber. 31. 309 (1898).
3) Röhmann, Z. phys. Ch. V. 103.
4) Rajewski, Pflüg. Arch. XI. 22.
5) Herzog. Hofmeister's Beitr. II. 102 (1902).
6) Weinland, Z. f. Biol. 42. 55 (1901).
7) Weinland, ibid. 43. 86 (1902).

sich auch im toten, unverletzten Thier wirksam zeigte. Alkoholbildung wurde nicht beobachtet.

Alle diese zerstreuten Beobachtungen weisen also bereits auf das Vorhandensein von alkoholbildenden Enzymen im Thier- und Pflanzenorganismus hin.

Die Isolirung und genauere Untersuchung dieser Enzyme ist nun in jüngster Zeit Stoklasa[1]) gelungen. Nach dem Buchner-Albert'schen Verfahren erhielt er und seine Mitarbeiter aus Rüben[2]), Erbsensamen, Kartoffeln, Blättern, Blüthen, aber auch Fleisch, Lunge etc. ein trockenes Enzym, das Glucose und Fructose stürmisch vergährt, und dabei reichlich Alkohol und CO_2 und zwar in den charakteristischen Mengenverhältnissen liefert. Auch abgesehen von dem erfolgreichen Bestreben, das Enzym selbst darzustellen, zeigen ihre Versuche, dass der gesammte anaërobe Stoffwechsel der Organe höherer Pflanzen sich als alkoholische Gährung auffassen lässt, insofern, als die Bildung von Alkohol, CO_2 und den Nebenproducten völlig der bei der echten Hefegährung entspricht.

Im Pankreas fand dann Simacek[3]) mit denselben Methoden ein alkoholbildendes Ferment (s. a. bei glycolytisches F.).

---

1) Stoklasa und Czerny, Chem. Ber. 36. 622 (1903).
2) Stoklasa, Jelinek und Vitek, Hofmeister's Beitr. III. 460 (1903).
3) Simacek, C. f. Phys. XVII. Nr. 1 (1903).

Dreiundzwanzigstes Capitel.

Biologie der alkoholischen Gährung.

Geschichtliches. Die Geschichte der Forschungen nach der Ursächlichkeit der alkoholischen Gährung fällt von dem Moment an mit der Geschichte der Hefenorganismen zusammen, wo die Bedeutung dieser lebenden Pflanzenzellen durch die klassischen Arbeiten von Pasteur unwiderleglich bewiesen war. Vorher war die im allgemeinen Theil gestreifte Ansicht von Gay-Lussac[1]), dass der Sauerstoff das ausschlaggebende Moment für das Zustandekommen der alkoholischen Gährung sei, die allgemein herrschende gewesen; und als dann endlich die lebenden Zellen in ihrer Bedeutung erkannt wurden, da brauchte es sehr viel Zeit und harte Kämpfe, um den Widerstand der Geister zu überwinden.

Die Entdeckung, dass die Hefe aus Körnchen besteht, machte Leeuwenhoek[2]), ohne daraus weitgehende Schlussfolgerungen zu ziehen, ebenso wenig waren die beiläufigen Angaben von Demazières[2]) und Erxleben[3]), die eine organisirte Structur der Hefe annahmen, von Bedeutung.

Die eigentliche wissenschaftliche Entdeckung der Hefepilze erfolgte dann fast gleichzeitig durch Cagniard-Latour[4]) und Schwann[5]), deren Schlussfolgerungen noch gestützt wurden durch kurz darauf publicirte Resultate von Turpin[2]). Kützing[6]) und Bouchardat[7]). Schwann führte zunächst gegen die Gay-Lussac'sche Anschauung ins Feld, dass auch bei Anwesenheit von freiem Sauerstoff keine Gährung eintritt, wenn die Luft des Gefässes vorher ausgeglüht war,

1) Genaueres darüber s. b. A. Mayer, l. c. S. 37—40.
2) cit. n. Pasteur, Die Alkoholgährg., l. c. S. 42; s. a. b. Kützing, l. c.
3) Erxleben, cit. nach Buchner, l. c. S. 2.
4) Cagniard-Latour, Ann. d. Chim. et Phys. (2.) 68. 206 (1836).
5) Schwann, Poggendorff's Ann. 41. 184 (1837).
6) Kützing, J. prakt. Ch. XI. 385.
7) Bouchardat, C. R. XVIII. 1120 (1844).

und dass ebenso die Gährung ausblieb, wenn er stets neue Luftmassen zuführte, die vorher ausgeglüht waren. Er schloss darans, dass die pflanzlichen Organismenkeime, die zur Herbeiführung des Gährprocesses nöthig sind, zwar durch gewöhnliche Luft den Gährgemischen zugeführt werden können, nicht aber durch die vorher in der Glühhitze von allem Lebenden befreite Luft.

Gegen diese Resultate sträubte sich die herschende Richtung in Deutschland ganz gewaltig. Die Microorganismen der Hefe wurden theils ignorirt, theils in der bittersten Weise ins Lächerliche gezogen[1]. Wie Liebig selbst sich absolut, auch später nicht, von dem innigen Zusammenhang von lebenden Pilzen und Gährung überzeugen liess und unbekümmert darum seine Zersetzungstheorie aufstellte und vertheidigte, haben wir im allgemeinen Theil besprochen. Und so entbrannte denn ein ausserordentlich hartnäckiger Kampf zwischen der neu erstandenen biologischen Richtung, die besonders durch Pasteur vertreten wurde, und der älteren Schule, deren Führer Liebig war[2]. Es ist, wenn wir die Sache jetzt rückblickend überschauen, sehr zu bedauern, dass die Vertreter einer energetischen. vom Leben unabhängig gedachten Fermentwirkung sich durch die Ableugnung der biologischen Thatsachen in einen so scharfen Gegensatz zu Pasteur und seiner Schule setzten; denn sie verhalfen dadurch eigentlich erst auch der rein biologischen Auffassung zu einem auch die theoretische Deutung der Fermentprocesse stark in Mitleidenschaft ziehenden Siege. Es wäre wohl nicht zu einer so grundlegenden Trennung der „geformten" Fermente von den Enzymen gekommen, wenn die Vertreter der energetischen Auffassung zwar die Thatsache, dass die alkoholische Gährung und andere ähnliche Processe wirklich in sehr engem Zusammenhang mit den lebenden Zellen der Hefe stehen, unumwunden zugegeben hätten, dafür aber mit um so grösserer Energie und viel mehr Berechtigung die Frage aufgeworfen hätten, inwiefern denn diese unbestrittene Zusammengehörigkeit mit lebenden Organismen uns einer Erklärung der Fermentprocesse näher bringt. In der That ist zwar die Aufdeckung dieses Zusammenhangs, abgesehen von ihrer grossen Bedeutung für das Gährungsgewerbe, eminent wichtig für die Frage nach der Entstehung und biologischen Stellung der Fermente überhaupt und für die Sonderstellung dieser speciellen Fermentationsprocesse; eine Erklärung indessen, was ein Fermentprocess ist, kann sie uns

1) s. die tolle Parodie in Lieb. Ann. 29. S. 100, die nach Buchner (l. c.) von Wöhler herrührt.

2) s. z. B. Schmidt, Liebigs Ann. 61. 168 (1847), der angeblich Gährung durch klar filtrirte Hefeextracte sah und die chemische Theorie als „erwiesen" ansieht.

nicht geben. Im Gegentheil: die rein biologische Auffassung verzichtet auf jede dynamische Untersuchung des Fermentvorganges; sie reducirt das Problem auf eine Theilerscheinung des uns so viele grosse Räthsel darbietenden Lebensprocesses und glaubt damit, dass sie ein neues Problem unter ein altes, ebenfalls ungelöstes rubricirt, eine „Erklärung“ dafür gegeben zu haben. So kämpfte man eigentlich gar nicht um dasselbe Ziel: Liebig verfocht eine theoretische Auffassung, Pasteur in erster Linie einen biologischen Zusammenhang. Freilich stellte Pasteur auch eine aus seinen biologischen Befunden gezogene Theorie der Hefewirkung auf, die aber einerseits auch eine rein biologische war: den Gährungsprocess auch theoretisch völlig von anderen Fermentprocessen loslöste; andererseits aber auch in ihren speciellen Voraussetzungen sich als falsch erweisen liess. Aber da Liebig sich auch gegen die Thatsachen, die der biologischen Auffassung zu Grunde lagen, und gegen jeden inneren Zusammenhang zwischen Lebensthätigkeit und Gährung sträubte, so lag es nahe, dass mit der Widerlegung seiner Einwände auch seine ganze Anschauungsweise fallen musste zu Gunsten der auf siegreichen Thatsachen fundirten Pasteur'schen Auffassung.

Und dass thatsächlich lebende Zellen beim Gährungsprocess die grosse Rolle spielen, die ihnen Cagniard la Tour und Schwann zugeschrieben hatten, trat bald klar zu Tage.

Die Befunde, die Schwann's Resultate bestätigten und erweiterten, mehrten sich. Mitscherlich[1]) und Helmholtz[2]) fanden, dass die alkoholische Gährung an Membranen Halt macht, was die Annahme der Ursächlichkeit lebender, nicht diffundirender Zellen stützt; Schröder und v. Dusch[3]) zeigten, dass blosses Filtriren der Luft durch dichte Baumwollfilter genügt, um die Gährung in Flüssigkeiten zu verhindern. Alle diese Versuche waren indessen nicht im Stande, den Widerstand der Gegner zu brechen. Da trat Pasteur[4]) auf den Plan und seine Experimente erwiesen mit völliger Sicherheit, dass thatsäch-

1) Mitscherlich, Liebig's Ann. 44. 186 (1842).

2) Helmholtz, J. prakt. Ch. 31. 429 (1844); s. dageg. Döpping und Struve, J. prakt. Ch. 41. 255 (1847).

3) Schröder und v. Dusch, Liebig's Ann. 89. 232 (1854); Schröder, ibid. 117. 273 (1861).

4) Pasteur hat seine Arbeiten in zahlreichen Publicationen niedergelegt, s. u. a. C. R. 50. 303. 849. 1083; 51. 348. 675; 52. 1260. Ann. Chim. et Phys. (3.) 58. 323; (4.) 25. 145 (gegen Liebig), ferner zusammenfassend: Études sur la bière, le vin; die Alkoholgährung, dtsch. von Griessmayer, Stuttgart 1871. Zweite Aufl. 1878. Ferner die glänzende kritische Zusammenfassung von Dumas, Ann. de Chim. et Phys. (5.) III. 57.

lich lebende Keime nöthig sind, um eine Gährung zu veranlassen, und dass diese lebenden Keime sehr schnell zu den Flüssigkeiten Zutritt erlangen, sobald man sie der Luft aussetzt; dass man dagegen gährfähige Flüssigkeiten sehr lange unzersetzt aufbewahren kann, wenn man sie von der gewöhnlichen Atmosphäre abschliesst. Andererseits konnte Pasteur auf den Filtern, durch die er die Luft streichen liess, die Keime jener Organismen sammeln und mit ihnen auf vorher ausgekochten, also keimfreien Flüssigkeiten direct Gährung erzeugen. Er wies ferner nach, dass auf hohen Bergen, wo die Luft sehr arm an Keimen ist, man meist die Flüssigkeiten durch Oeffnen der Kolben zeitweilig der Luft aussetzen kann, ohne dass Gährung eintritt. Ausserdem erhärtete er die biologischen Zusammenhänge dadurch, dass er bei jeder Gährung das Wachsthum der Hefe nachweisen konnte, parallel mit der Ausdehnung des Gährprocesses, und fand, dass mit der Beeinflussung der biologischen Functionen der Hefepilze durch Wechsel der Ernährungsbedingungen auch die Intensität des Gährprocesses schwankt.

So war denn durch die Pasteur'schen Befunde, denen unabhängig von ihm entstandene, im gleichen Sinne zielende Arbeiten von van den Broek[1]) und Hoffmann[2]) zur Stütze dienten, die Nothwendigkeit der Anwesenheit lebender Hefezellen zur Evidenz erwiesen. Von van den Broek's Versuchen sei besonders der Nachweis erwähnt, dass frischer, ungekochter Traubensaft nicht gährt, wenn man die Luftkeime abschliesst.

Dazu kam andererseits der ebenfalls von Pasteur[3]) geführte Nachweis, dass von einer Zersetzung der Hefe, wie sie Liebig annahm, und die man nach Döbereiner's Vorgang in dem Freiwerden ihres Stickstoffs in Form von löslichen Ammoniaksalzen zu sehen geglaubt hatte, in diesem Sinne bei der Alkoholgährung keine Rede ist. Er konnte zeigen, dass während des Gährprocesses gar kein Ammoniak abgespalten wird, sondern im Gegentheil Ammoniaksalze noch dabei verbraucht werden können.

Durch diese Keulenschläge war denn doch der Widerstand der Liebig'schen Schule gegen die biologischen Thatsachen schwer erschüttert, und Liebig selbst musste in seinem letzten umfassenden Versuche[4]), seine Position zu halten, den Parallelismus der Entstehung von lebenden Organismen mit der Gährung zugestehen.

---

1) van den Broek, Liebig's Ann. **115**. 75 (1860); s. a. Wurtz, Repert. d. Chim. pure. 1861. S. 29.

2) Hoffmann, Bot. Ztg. 1860. 49.

3) Pasteur, Alkoholgährg., l. c. S. 56.

4) Liebig, seine Annalen. **153** (1870). S. 1.

Ausser einigen kleinen Vorwürfen gegen Pasteur, die an sich wenig berechtigt und ziemlich gleichgiltig sind, führt er dann als Hauptargument an, dass die Hefe ja thatsächlich ein lebloses Enzym (die Invertase) absondert, das einen Theil ihrer Function, die Spaltung des Rohrzuckers, vollzieht. Diese Thatsache verwerthet er in dem Sinne, dass vielleicht auch die ganze übrige Function der Hefe auf ein von ihr producirtes Ferment zurückzuführen sei. Er hat zwar diese Deutung seines Einwandes nirgends klar formulirt, aber die ganze Kampfmethode weist darauf hin, dass er eben an eine principielle Trennung des Gährprocesses von dem Lebensvorgang der Hefezellen in dem Sinne dachte, dass zwar die Fermentproduction. nicht aber die Fermentwirkung untrennbar mit der Vegetation der Pilze verbunden sei, wie dies ja völlig dem theoretischen Urgrund seiner Anschauungsweise — abgesehen von seiner unhaltbaren Annahme einer Zersetzung — entspricht. Aber diese, wie wir jetzt wissen, sehr wohl begründete Annahme, die späterhin in Berthelot, Traube und Hoppe-Seyler so ziemlich die einzigen Verfechter fand, wurde in den Hintergrund gedrängt durch die Unmöglichkeit des experimentellen Nachweises solcher Enzyme[1]), die mit unfehlbarer Sicherheit auf den untrennbaren Zusammenhang beider Processe hinzuweisen schien. Die rein theoretische Frage blieb bei dieser sich meist auf experimentelle Streitfragen beschränkenden Discussion, wie wir oben sahen, leider viel zu sehr ausser Acht; Liebig stellte mit zu wenig Nachdruck die Kabinetsfrage, inwiefern denn die vitalistische Theorie die Fermentvorgänge erklärt; er konnte das auch nicht recht, weil seine eigene Erklärung, die Zersetzungstheorie, scheinbar von ihm selbst nicht mehr aufrecht erhalten werden konnte; kurz, Liebig's Versuch, den Ansturm der vitalistischen Auffassung aufzuhalten, hatte weiter keinen Erfolg, als auf einige kleine Schwächen der Pasteur'schen Untersuchung wirksam hingewiesen zu haben; die experimentellen Versuche waren gegen Liebig; weder das Studium der Invertase, noch der ebenfalls nach aussen hin wirksamen katalytischen, Wasserstoffsuperoxyd zersetzenden Kraft der Hefe liessen sich im Sinne einer Trennung des Lebensprocesses von der Gährthätigkeit wirksam verwerthen[2]); auch die spärlichen, oben gestreiften Befunde von nicht völliger Parallelität des Lebens und der Fermentthätigkeit wurden nicht beachtet; der Sieg der vitalistischen, in ihrem Thatsachenmaterial absolut einwandsfreien Anschauung über die auf falschen Fundamenten aufgebaute energetische Theorie wurde ein so vollständiger,

1) Die Geschichte dieser vergeblichen Versuche s. b. Buchner, l. c. S. 13.

2) A. Mayer, Landw. Versuchsstat. XVI. 277.

dass auch Nägeli in seiner molecular-physikalischen, also energetischen Theorie der Fermentationen vor dem Tabu der „geformten" Fermente Halt machte, indem er annahm, dass die Atomschwingungen, die zum Zerfall des Zuckers führten, nur von lebenden Zellen ausgehen könnten, und dass auch die besten Kenner der alkoholischen Gährung, obwohl sie einsahen, dass diese vitale „Erklärung keine sehr tiefgehende" ist[1]), sich damit begnügten, sie als einen „Inductionsschluss" zu adoptiren und damit auf jeden Versuch einer dynamischen Erklärung der von der Hefe ausgelösten fermentativen Vorgänge zu verzichten.

Dass mit dieser Annahme jeder Zusammenhang mit den „Fermentprocessen" logischer Weise wegfällt, und dass Hansen diese sehr richtige Consequenz auch gezogen hat, haben wir im „Allgemeinen Theil" auseinander gesetzt. Wir kommen in der Verfolgung dieser rein vitalistischen Anschauung zur Identificirung der „geformten Fermente" mit dem Stoffwechsel überhaupt, womit sich das Problem der gesonderten Behandlung entzieht.

Wenn wir unsere Betrachtung kurz resumiren: Theoretisch kann man die fermentative Function von dem Lebensprocess als solchem trennen, und dass diese theoretische Scheidung sich auch experimentell begründen lässt, das nachgewiesen zu haben, ist das grosse Verdienst von E. Buchner. Aber auch ohne diese experimentelle Stütze unserer Anschauung können wir theoretisch auf das Bestreben Liebig's zurückgreifen, die Fermentprocesse energetisch definiren zu wollen, wenn wir auch seine Theorie als falsch erkennen müssen; ohne freilich vorläufig im Stande zu sein, eine wirkliche, bessere Theorie der Fermentwirkungen, mag es sich um Enzyme, oder „geformte" Fermente handeln, an ihre Stelle zu setzen.

Wollen wir nun von den theoretischen Auseinandersetzungen zu der praktischen Biologie der alkoholischen Gährung übergehen, so müssen wir nochmals betonen, dass es nicht im Plane dieser Arbeit liegen kann, eine auch nur annähernd ausführliche Besprechung der Morphologie und Physiologie derjenigen Microorganismen zu geben, die man als Fermentquellen für diesen Process zu betrachten hat. Die Morphologie werden wir überhaupt nur in ihren Grundzügen streifen, ebenso die Systematik; die Physiologie nur insofern genauer behandeln, als sie mit der fermentativen Function zusammenhängt.

Die Hefe besteht aus microscopisch kleinen, kugeligen Zellgebilden.

1) A. Mayer, Gährungschemie, l. c. S. 67. Dieses Zugeständniss scheint indessen auch nur im Wesentlichen eine Reverenz vor Liebig zu sein, die M. dem grossen Gelehrten, auch wenn er irrt, in pietätvoller Weise nicht versagt.

Schon die oberflächliche Betrachtung der wichtigsten Hefearten lässt in der Configuration der einzelnen Zellen und ihrem Zusammenhang gewisse Unterschiede erkennen. In der **untergährigen** Bierhefe sind die Zellen meist einzeln oder nur zu zweien angeordnet, während in der **obergährigen** Hefe sich Stränge mit reichen Verzweigungen aus den einzelnen Zellen bilden. Die **Weinhefe** endlich hat kleinere Einzelzellen als die Bierhefe.

Aus diesen augenfälligen Unterschieden wurden indessen allgemein acceptirte systematische Trennungen nicht abstrahirt.

Eine grundlegende Bedeutung für die botanische Klassification der Hefepilze gewannen erst die Arbeiten von **Reess**[1]), denen sich dann später vor allem die klassischen, für die Gährungstechnik von der grössten Bedeutung gewordenen Arbeiten von **Hansen**[2]) anschlossen, der uns lehrte die Gährungspilze in „**reinen Rassen**" zu züchten.

Reess benannte alle Alkoholgährungspilze mit dem von **Meyen** herrührenden einheitlichen Gattungsnamen **Sacharomyces**, der jetzt allgemein adoptirt ist.

Er nahm für die Bierhefe nur eine Species an, die er als **Sacharomyces cerevisiae** bezeichnete, und erklärte die Unterschiede, speciell auch die zwischen **Oberhefe** und **Unterhefe**, für Spielarten und constant gewordene Vegetationsformen derselben Species. Für die anderen alkoholischen Gährungen, Wein, Branntwein etc., treten dagegen andere **Arten** in Function.

Der **Sacharomyces cerevisiae** misst im grössten Durchmesser 8—9 μ und besitzt etwas länglich geformte Zellen.

Aus der Weinhefe hat **Reess** noch im Wesentlichen folgende Arten beschrieben:

S. **ellipsoideus**[3]) ist schwach elliptisch geformt und hat 6 μ im Durchmesser. Er zeigt sehr reiche Sprossverzweigungen. Er vergährt auch Bierwürze, ohne selbst durch mehrere Generationen hindurch seine charakteristische Gestalt einzubüssen, weshalb man Grund hat, ihn als eigene Species zu führen. Neben diesem spielt bei der Weingährung noch der S. **apiculatus** eine Rolle, der eine längliche, zwei-[illegible] eingeschnürte Gestalt besitzt und 6—8 μ lang ist. Er ist [illegible] interessant, dass er weder **Invertase** noch **Maltase**[4]) pro[illegible] Arten finden sich in der Natur an den Trauben vege-

1) [illegible] Untersuchg. üb. d. Alkoholgährungspilze. Leipzig 1870.
2) [illegible] Zusammenfassung in: „Untersuchungen aus der Praxis d. [illegible] 189[illegible] (dort Litteratur).
3) [illegible] Ann. d. Oenolog. II. 145, cit. n. A. Mayer, l. c.
4) [illegible] phys. Ch. XII. 558 (1888).

tirend. S. apiculatus soll nach Müller-Thurgau [1]) indessen der Weingährung schädlich sein. Galactose greift er nicht an (Voit[2])). Im Winter ist er im Erdboden nachzuweisen (Hansen[3])). Dazu kommt als dritte Form der lange (bis 20 μ), keulenförmige S. Pastorianus, der besonders bei der Nachgährung zuckerreicher Weine eine Rolle spielt.

Alle diese Arten zerfallen wieder in Spielarten von sehr verschiedenem praktischen Werthe.

Die botanische Einheitlichkeit der Gattung Sacharomyces beruht nach Reess in einer für sie typischen Fruchtbildung, die unter gewissen Bedingungen die gewöhnliche Vermehrung durch Sprossung unterbricht und auf einer Bildung von 2—4 Sporen in den Mutterzellen beruht.

Sie tritt besonders bei Nahrungsmangel sowie bei reichlichem Sauerstoffzutritt und bei gewissen Temperaturbedingungen auf, auch z. B. bei Presshefen (Schuhmacher[4])). Reess bezeichnete sie als Ascosporenbildung, und in Folge dessen rechnet man die Sacharomyces-Arten botanisch zu den Ascomyceten.

Wir finden also eine Reihe von Sacharomycesarten als Träger des alkoholischen Fermentes. Ausser den genannten finden wir noch u. a. S. octosporus [5]), S. exiguus, der Fructose schneller als Glucose vergährt (Gayon und Dubourg[6])), S. Ludwigii[7]), S. Marxianus. Ersterer enthält wie der S. apiculatus keine Invertase, letztere beiden Formen keine Maltase (s. d.). S. fragrans enthält keine Maltase und kann auch Stärke nicht angreifen (Beyerinck[8])). Dazu kommen dann die Milchzuckerhefen, die Lactase produciren, z. B. S. tyrocola, S. lactis[9]).

Ausserdem giebt es noch einige Sacharomyceten im botanischen Sinne, die nicht Zucker zu Alkohol vergähren, z. B. S. membranaefaciens (Hansen) und das früher sogenannte Mycoderma vini, der Weinkahmpilz, den Reess ebenfalls zu den Sacharomyceten gestellt hat.

Interessant sind die zahlreichen Versuche, Beziehungen zwischen den Schimmelpilzen und der Hefe herzustellen. Ueber die Frage ist eine beträchtliche Litteratur zu Stande gekommen[10]).

1) Müller-Thurgau, Jahresber. d. deutsch-schweizer. Versuchsstat. f. Obst, Wein u. Gartenbau. VII; Chem. Centralbl. **1899**. 916.

2) Voit, Z. f. Biolog. **29**. 149.

3) Hansen, Z. f. ges. Brauw. **1881**. 449.

4) Schuhmacher, Wiener acad. Sitzb. Math.-Nat. Kl. 70. I. 157 (1874).

5) Der aber von Beyerinck, C. f. Bakt. XVI. 49 (1894) als einer anderen Gattung angehörig, als Schizosacharomyces bezeichnet wird.

6) Gayon und Dubourg, C. R. **110**. 865 (1890).

7) s. d. Dienert, C. R. **128**. 569 (1899) (Galactosegährg.).

8) Beyerinck, C. f. Bakt. (2.) I. 226 (1895) (dort Uebersicht).

9) Duclaux, Ann. Inst. Past. I. 573 (1886); Adametz, C. f. Bakt. V. 116 (1889); Kayser, Ann. Inst. Past. V. 395 (1891).

10) s. dar. A. Mayer, l. c. S. 97ff.; Jörgensen, C. f. Bakt. (2.) I. 321 (1895).

Nachdem man jetzt zur Klarheit darüber gelangt ist, beschränkt sich dieser Zusammenhang auf Folgendes:

Irgend welche wirklichen intimen Beziehungen zwischen diesen beiden, botanisch ganz getrennten Pilzgattungen bestehen nicht; die Befunde, die dem Gedanken Raum geben, dass man etwa echte, sprosstreibende Hefepilze in echte mycelbildende Schimmelpilze überführen könne, beruhen auf mangelhafter Reinzüchtung. Indessen hat einerseits Hansen[1]) gefunden, dess einige echte Sacharomycesarten unter gewissen Bedingungen, besonders bei reichlicher Gegenwart von Sauerstoff, Häute und mycelähnliche Formen bilden, die erst durch die typisch bleibende Sporenbildung als wirkliche Sacharomyceten identificirt werden können.

Andererseits aber sind einige Schimmelpilze, Mucorarten und Aspergillus Oryzae (Juhler[2])), im Stande, bei Sauerstoffabschluss hefeähnliche Formen anzunehmen und Sprossen zu bilden. Diese Formen erzeugen dann auch alkoholische Gährung, die sich nur wenig von der typischen Sacharomyces-Gährung unterscheidet. Besonders Mucor mucedo und racemosus haben diese Fähigkeit (Fitz[3])). Sie bilden relativ mehr Kohlensäure, wie Bierhefe; neben Bernsteinsäure konnte Glycerin nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden; sie enthalten zwar Invertase, aber keine Lactase. Auch Mucor alternans und circinelloides können Alkoholgährung bewirken (Gayon und Dubourg[4])). Auch einige andere Pilzformen, so besonders die wegen ihrer eigenthümlichen Invertasebildung interessante Monilia candida, können die alkoholische Gährung einleiten, ferner auch der Soorpilz, der neben Alkohol auch Nebenproducte, u. a. Aldehyd liefert (Linossier und Roux[5])).

Alkoholbildend ist auch die Kojihefe, in der der Aspergillus Oryzae gefunden wird, und die das Saké, den Reiswein der Japaner, erzeugt (s. b. Takadiastase). Insbesondere hat Juhler (l. c.) die Umwandlung des Aspergillus Oryzae in einen Sacharomyces behauptet und daraus weitgehende Folgerungen in Bezug auf die Abstammung der Sacharomyceten gezogen. Doch sind seinen Befunden Klöcker und Schiönning[6]) entgegengetreten. Schwer erschüttert wird diese Lehre durch die Angabe von Kosai und Yabe[7]), dass ausser dem Aspergillus Oryzae noch ein anderer, Hefepilz in der Kojihefe vorhanden ist, dem die eigentliche Gährungsfunction obliegt. Dass nicht dem Aspergillus Oryzae selbst die alkoholisirende Function zugeschrieben werden darf, hat schon Büsgen[8])

1) Hansen, cit. n. Mayer, ebda.
2) Juhler, C. f. Bakt. (2.) I. 16. 326 (1895).
3) Fitz, Chem. Ber. VI. 48 (1873); IX. 1352 (1876); s. a. Brefeld, Chem. Ber. VII. 282 (1875).
4) Gayon und Dubourg, Ann. Inst. Past. I. 525 (1886).
5) Linossier und Roux, C. R. 110. 868 (1890).
6) Klöcker und Schiönning, C. f. Bact. (2.) I. 777 (1895).
7) Kosai und Yabe, C. f. Bakt. (2.) I. 619 (1895).
8) Büsgen, Ber. d. d. bot. Ges. III. S. LXVI (1885).

gegenüber älteren Untersuchungen ausgesprochen. Ein ähnliches Zusammenwirken von Schimmelpilzen und Sacharomyceten scheint bei der alkoholbildenden tonkinesischen Hefe vorzuliegen, wo Calmette[1]) neben dem Diastase bildenden Amylomyces Rouxii noch dem S. Pastorianus ähnliche alkoholbildende Sacharomyceten auffand.

Alkoholbildende Sacharomyceten spielen auch in der pathologischen Mycologie eine Rolle, da sie in seltenen Fällen schwere Krankheiten erzeugen, so z. B. der S. hominis (Busse[2])), S. subcutaneus tumefaciens (Curtin[3])), S. neoformans und litogenes (Sanfelice[4])) u. A.

Verschiedenheiten in der Fermentwirkung. Die einzelnen Sacharomycesarten verhalten sich in Bezug auf ihre alkoholisirende Kraft, und damit auf ihre technische Brauchbarkeit, durchaus nicht gleichmässig. Abgesehen davon, dass einzelne von ihnen, wie z. B. Sacharomyces Mycoderma, überhaupt nicht gähren, ist auch ihre quantitative Leistungsfähigkeit durchaus verschieden. Zum Theil hängt dies ja davon ab, dass einzelnen von ihnen die zur hydrolytischen Spaltung des Rohrzuckers, resp. der Maltose nöthigen Enzyme fehlen, so dass ihnen schon im zu vergährenden Substrat Hindernisse in den Weg treten. Andererseits wächst mit zunehmender Vergährung der Alkoholgehalt der Flüssigkeit, der bei einem gewissen Gehalt alle Hefewirkung aufhebt, und gegen den die einzelnen Sacharomycesarten verschieden empfindlich sind. So stellt z. B. S. apiculatus relativ schnell, bei einem geringeren Alkoholgehalt, seine Thätigkeit ein, wenn er nicht, wie Müller-Thurgau[5]) meint, überhaupt unbrauchbar für die Weingährung ist. Noch empfindlicher gegen Alkohol sind die Mucor-Hefen.

Praktisch von grösster Wichtigkeit ist es indessen, dass manche echte Sacharomyceten Spielarten bilden, die durch Production schlecht schmeckender oder Trübungen veranlassender Nebenproducte das Bier verderben. Hansen's[6]) grosses Verdienst ist es, nachgewiesen zu haben, dass diese Schädlinge nicht etwa anderen Pflanzengattungen angehören, sondern dass es wirklich Sacharomyceten sind.

Er hat dann alle diese Spielarten in mühevollen Arbeiten in Reinculturen von den brauchbaren isolirt und die Brauereien gelehrt, durch Anwendung von reingezüchteten Sacharomyces-Rassen, die reine Gährungen

1) Calmette, Ann. Inst. Past. VI. 604 (1892).
2) Busse, C. f. Bakt. XVI. 175 (1894).
3) Curtin, Ann. Inst. Pasteur. X. 449 (1896) (dort Litteratur).
4) Sanfelice, Z. f. Hyg. XIX. 32. 394 (1896).
5) Müller-Thurgau, l. c. Chem. Centralbl. 1899. 916.
6) Hansen, Untersuch. a. d. Praxis d. Gährungsindustrie. 1895.

erzeugen, eine constant gute Beschaffenheit des Bieres zu gewährleisten, während man früher, bevor man diese Reinculturen besass, fast dem Zufall preisgegeben war. Es existiren jetzt eine ganze Reihe von rein gezüchteten, rein erhaltenen guten Heferassen, die je nach dem Wunsche des Consumenten ein Bier von verschiedenem, aber stets gleichmässigem Wohlgeschmack erzeugen.

Als schädliche Hefen erwiesen sich besonders einige Rassen von S. ellipsoideus (II) und S. Pastorianus (I und III).

Versuche, nach diesen Principien auch für die Weingährungsindustrie, die bisher im Gegensatz zur Brauereitechnik mit nicht künstlich zugesetzten Hefen arbeitete, die Vortheile der Hefereinzüchtung zu erlangen, sind besonders von Wortmann[1]) mit gutem Erfolge angestellt worden, ohne allerdings bis jetzt auf die Praxis von so total umwälzendem Einfluss zu sein, wie Hansen's Versuche für das Brauwesen.

Was Hansen planvoll und mit grosser Sorgfalt erreicht hat, das wird allerdings mitunter durch gewisse empirisch ausprobirte Bedingungen von selbst gewonnen, dass nämlich ungewünschte Nebenreactionen ganz oder fast ganz sich ausschliessen lassen. Das gilt besonders für den allerdings in puncto des Wohlgeschmacks nicht so empfindlichen Brennereibetrieb (Delbrück[2])).

Doch hat man auch hier schon angefangen, nach dem Hansen'schen Verfahren vorzugehen, z. B. bei der Rumfabrikation (Greg[3])).

Beziehungen zwischen dem Leben der Hefe und ihrer Fermentwirkung. Wenn man lebende Hefezellen in einer Zuckerlösung cultivirt, so gehen darin nach unserer Anschauung zwei theoretisch zu trennende Processe vor sich: einerseits die vitalen Functionen der Pilze, ihr Leben im engeren Sinne, und andererseits ihre fermentative Function, die Gährung. Während der letztere Vorgang sich ausschliesslich auf den Zucker und zwar auf einfache d-Hexosen beschränkt, braucht der Organismus der Hefe naturgemäss auch noch andere Nährstoffe. Ihren Kohlenstoffbedarf kann die Hefe aus dem Zucker decken, den sie zu vergähren resp. zu verbrauchen im Stande ist; dagegen müssen ihr zum Aufbau ihrer körperlichen Eiweissstoffe noch stickstoffhaltige Nährmaterialien zugeführt werden.

Dass eine Stickstoffquelle nothwendig ist, ist a priori selbstverständlich, indessen musste doch den Gegnern der vitalistischen Anschauung gegenüber auch der exacte Beweis geliefert werden. Dies hat schon Pasteur gethan, der zeigte, dass in einer reinen stickstofffreien Zucker-

1) Wortmann, Landwirthsch. Jahrb. 23 (1894), 535; ferner Wortmann, Anwendung reiner Hefen in der Weinbereitung. Berlin 1895.

2) Delbrück, Wochensch. f. Brauerei. 1895.

3) Greg, Centr. f. Bact. XV. 46 (1894). Ref.).

lösung eine Vermehrung der Hefe, also eine Neubildung von Zellen, nicht eintritt.

Wir müssen uns dann weiterhin fragen, welche stickstoffhaltigen Substanzen der Hefe als Nährstoff dienen können.

Als solche kommen zunächst Eiweissstoffe in Betracht. Pasteur führte den Nachweis, dass ein Extract der Hefezellen selbst, das eiweissähnliche Substanzen enthält, ein ausreichendes Nährsubstrat für die Pilze darstellt, dass dagegen die dem Hefenauszug beigemengten anorganischen Bestandtheile, wie sie die Hefenasche enthält, ein Leben der Hefe nicht ermöglichen.

Der freie Stickstoff der Atmosphäre kann von der Hefe, wie von den meisten anderen Pflanzen, nicht assimilirt werden.

Dagegen zeigen die Hefezellen ihren exquisit pflanzlichen Stoffwechsel darin, dass sie, wie auch schon Pasteur gefunden hat, die Ammoniaksalze zu verwerthen im Stande sind. Als verwendbare Ammoniaksalze kommen nicht nur weinsaures, sondern auch salpetersaures, oxalsaures Ammon u. a. in Betracht.

Als fernere sehr wichtige Stickstoffquellen finden wir diffusible Proteïde, also speciell Peptone und ähnliche Stoffe. Ferner die Proteïde des Eidotters und das Syntonin. Dagegen erwiesen sich höher zusammengesetzte Eiweissstoffe, z. B. Albumin und Caseïn, als ungeeignet für die Ernährung der Hefe, wie A. Mayer[1]) constatirte, der einen Zusammenhang zwischen Diffusibilität und Ernährungswerth feststellte.

Als weitere Stickstoffquellen erwiesen sich Aminosäuren und Stoffe ähnlicher Zusammensetzung: Allantoïn, Guanin, Harnsäure, Acetamid, Asparagin, weniger Kreatin und Kreatinin. Andere stickstoffhaltige Stoffe erwiesen sich als ungeeignet, so Caffeïn und Hydroxylamin. Salpetersaure Salze können die Sacharomycesarten nicht verwenden[1]), wohl aber Mucor (Fitz[2])). Nitrite sind direct schädlich (Laurent[3])).

Dass dieser Stickstoff nicht nur zu neuer Eiweissbildung verwendet wird, sondern dass in den Hefezellen ein wirklicher Stickstoffumsatz stattfindet, hat A. Mayer dadurch nachgewiesen, dass der nutzbare Stickstoff thatsächlich verbraucht wird, und Hefepilze in Nährmedien, die weniger assimilirbaren Stickstoff enthalten, ipso facto in ihrer Lebensthätigkeit und Fermentthätigkeit geschädigt werden. Der Stickstoffgehalt der Hefe wird allmählich geringer und zwar nicht nur durch Vertheilung auf eine grössere Anzahl von Zellen, sondern auch absolut, d. h. die Hefe scheidet in die umgebenden Medien eine stickstoffhaltige Substanz aus, die nicht in vollem Umfange zur nochmaligen Assimili-

1) Genaueres über dieses Thema und Litteratur s. b. A. Mayer, Gährungschemie, l. c. S. 124 ff.

2) Fitz, Chem. Ber. VIII. 540 (1875).

3) Laurent, Ann. de l. soc. belg. de microscopie. XIV. (Koch's Jahresb. üb. Gährungsorg. 1890. S. 54). Dort eine umfassende Abhandlung über die Ernährung der Hefe, auf die ich hier nur hinweisen kann.

[illegible] werden kann. Die Natur dieser Ausscheidungsproducte [illegible] festgestellt.

[illegible] Stickstoff braucht die Hefe natürlich auch [illegible] diesem Postulate ist von **Pasteur** Genüge gethan [illegible] dass Zucker und Ammoniaksalze **allein** die [illegible] wohl aber durch Zusatz von **Hefenasche**.

[illegible] Salze als unentbehrlich für die Hefe anzu[illegible] A. **Mayer**[1] sehr ausführlich behandelt, wir ent[illegible] nur die Thatsachen.

[illegible] demzufolge **Eisen**, **Kalium** (nicht durch [illegible] **Magnesium**, **Phosphor**, sehr wahrscheinlich [illegible] Form von **Schwefelsäure**; entbehrlich [illegible] **Natrium**.

[illegible] Nährmittel der Hefe ist natürlich auch das [illegible] fand, dass Hefe zwischen 40 und 80 % [illegible] gährfähig ist, sie erträgt indessen eine [illegible] Durch rasche Schwankungen in der Concen[illegible] Aenderungen des osmotischen Druckes [illegible] Hefezellen geschädigt und sogar getötet werden.

[illegible] dem Wassergehalt steht offensichtlich die [illegible] der Concentration der zu fermentirenden [illegible] Zusammenhang. Das Optimum liegt bei [illegible] die Gährthätigkeit schon sehr schwach. Aehn[illegible] Wasserentziehung concentrirte Glycerin- und Salz[illegible] **Mucorhefen** vertragen eine Concentration von [illegible] gut.[3]

[illegible] Nährmedien entfaltet also die Hefezelle ihre vitalen [illegible] **assimilirt**, baut sich ihren Zellleib aus **Kohlenstoff**, [illegible] und **Wasser** auf und dissimilirt auch in [illegible] **wechsel**, wobei, wie wir sahen, noch nicht näher [illegible] Endproducte neben den kohlenstoffhaltigen, [illegible] mit völliger Sicherheit als **Stoffwechsel**[illegible] können, entstehen. In ihrem Zellleib producirt [illegible] ihr **spezifisches Ferment** und vollzieht [illegible] Function: die **alkoholische Spaltung der**

[illegible] den Hefen hängt von verschiedenen Be[illegible] wechselnd. Interessant ist, dass zur Zeit

[illegible] **dort auch Litteratur**).
[illegible] Sitzb. 59. II. (1869). S. 495.
[illegible] 1896. 229.

der höchsten Gährthätigkeit der Zymasevorrath ein geringer ist (Buchner, l. c. S. 278). Bei Regenerirung der Hefe nach Hayduck, d. h. Umzüchten in gelüfteter, stickstoffarmer Zuckerlösung, erhält man Hefe, die reichlich Zymase producirt.

Zu den vitalen Functionen des Hefepilzes gehört natürlich auch seine Vermehrung. Solange die Hefezelle genügendes Nährmaterial zur Verfügung hat, so lange vermehrt sie ihre Gesammtmasse, unter normalen Verhältnissen vorwiegend durch Sprossung. Die Menge der neu entstehenden Hefe steht unter normalen Bedingungen in einem annähernd bestimmten Verhältniss zu ihrer fermentativen Function, gemessen an der Production von Alkohol. Nach A. Mayer[1]) beträgt diese Neubildung 1,38—2,03 % trockener Hefesubstanz.

Nach A. Brown[2]) hängt die schliessliche Anzahl von Hefezellen fast ausschliesslich von der Zusammensetzung des Nährmediums, nur wenig von der Menge der ursprünglich eingesetzten Zellen ab. Wenn er in einem Versuch die achtfache Menge von Zellen in dem gleichen Nährmedium aussetzte, als in einem anderen, so war doch nach beendigter Fermentation die Zahl der Zellen fast gleich. Bei einer gewissen Menge tritt also keine Vermehrung, ja sogar bisweilen theilweiser Zerfall ein.

Wir müssen hier nochmals auf die theoretisch so wichtige Frage zurückkommen, ob denn wirklich stets die vitalen Vorgänge der Hefe untrennbar mit den fermentativen zusammenfallen.

Wenn wir die entstehenden Nebenproducte als nicht fermentative Stoffwechselproducte ansehen, dann haben wir allerdings, wie oben gezeigt, in ihren Entstehungsbedingungen, besonders in quantitativer Beziehung, Gründe genug, um eine blosse Parallelität beider Vorgänge anzunehmen. Aber auch bei genauerem Studium der reinen Alkoholgährung lassen sich einige Gründe für unsere Anschauung ins Feld führen.

So fanden Mach und Portele[3]), dass die vegetative und die gährende Energie nicht gleichzeitig ihr Maximum erreichen, sondern dass die Hefe erst schneller wächst als gährt, und dass erst später das Maximum der Gährwirkung erreicht wird.

Ferner hört die Gährthätigkeit nicht sofort auf, wenn die Hefe aus Mangel an assimilirbarem Material ihre Vermehrung einstellt. Es ist dann nach unserer Vorstellung noch eine gewisse Quantität Ferment vorhanden, die erst verbraucht werden muss.

---

1) A. Mayer, l. c. S. 119.

2) A. Brown, Journ. Chem. Soc. **61**. 369 (1892).

3) Mach und Portele, Landw. Versuchsstat. **41**. 261 (1892).

... auch der Gegensatz, dass zwar die assimilato- ... barkeit von Proteïdsubstanzen für die Hefe sehr we- ... Diffusionsfähigkeit abhängt[1]), dass dagegen die Ver- ... ändigkeit der Zucker gar nicht damit in Beziehung ... Wenn wir ferner die Einwirkung verschiedener ... chemischer Agentien auf die Hefe untersuchen, so ... im Allgemeinen eine sehr weitgehende Uebereinstim- ... dem Verhalten der Hefe als lebendem Organismus und ... und doch weisen einige spärliche Beobachtungen auch ... dass eine völlige Abhängigkeit der Fermentation ... nicht besteht.

... so leichte Differenzirung, wie wir sie bei den gewöhn- ... finden, ist bei der Hefezymase unmöglich; ihre ... können wir leicht zur Demonstration bringen, wenn ... gewisse Gifte die vitale Zellenergie ausschalten; wenn wir ... dem alkoholisirenden Ferment machen wollten, so ... bald davon überzeugen, dass im Grossen und Ganzen ... welche den vitalen Functionen der Hefe Schaden ... Fermentenergie in demselben Maasse schädigen. ... Mutterzelle getötet oder schwer geschädigt wird, ist ... Ferment sehr schnell vernichtet.

... Temperaturen, starke Säuren und Basen die Zelle mit ... vernichten, ist noch in völliger Analogie mit den ge- ...

... die gewöhnlichen, für die Enzyme wenig ... giftе heranziehen, ändert sich die Sachlage ... die für die lebende Zelle verderbenbringend ... Gährfähigkeit der Hefe auf.

... welche man ja gerade zur Demonstration der ... gewandt hat, seien nur Chloroform, Toluol, ... wirken viele Salze, z. B. die des Eisens ... schädlich, wohl aber z. B. Cyankalium und ... Strychnin und Chinolin sind unschädlich. ... Aluminiumsalze wirken sogar för- ... säure und ihre Salze, sowie u. a. Asparagin

... C. R. 110. 685 (1890).
... A. Mayer, l. c. S. 147.
... Chim. (3) IX. 151 (1893).

Arsensaures Natrium wirkt auf Hefe sehr wenig ein, wohl aber auf andere Spaltpilze (Schaeffer und Böhm[1]).

Besonders sorgfältig ist die Frage nach der Beeinflussung der Hefe durch Gifte von Schulz[2]) und seinen Schülern untersucht worden. Sie fanden, dass kleine Dosen, z. B. von Ameisensäure etc. die Wirkung beförderten, grössere Dosen schädigten.

Für die Wirkung der Metallsalze auf Hefen nimmt Mann[3]) eine Bindung derselben in Form von Phosphaten an die Zelle an.

Kohlensäure wirkt hemmend (Foth[4])). Schweflige Säure tötet Hefe bei starker Concentration (200 ccm Gas auf 1 l Wasser) sehr schnell (Linossier[5])), besonders bei saurer Reaction.

Eine umfangreiche Untersuchung der Wirkung von Kalk, Natriumarsenit und Phenol auf untergährige Hefe liegt ferner von Knoesel[6]) vor.

Das Fluornatrium, das bekanntlich die Fäulnissbacterien in einer Concentration von höchstens 1 % sicher tötet, hat auf Hefepilze einen schwächeren Einfluss, weshalb man nach dem Vorgange von Effront seine Anwendung im Brauereigewerbe empfohlen hat, um die Spaltpilze fernzuhalten.

Bei den Fluorverbindungen finden wir auch einen jener oben erwähnten Fälle, wo ein gewisses Auseinandergehen der rein vitalen von der fermentativen Energie vorzuliegen scheint. Effront[7]) fand nämlich, dass Fluornatrium und andere Fluorverbindungen in geringer Concentration die Vermehrung der Hefezelle sistiren, dabei aber die Fermentwirkung nicht nur nicht beeinträchtigen, sondern sogar erhöhen.

Auch in einer Kohlensäureatmosphäre verhält sich die Hefe nach Foth[8]) ähnlich.

Ein ähnliches Beispiel dafür, dass man unter gewissen Bedingungen die Fermentwirkung schonen kann, wenn man die Lebensthätigkeit vernichtet, liefern die Versuche von Fiechter[9]), der fand, dass Blausäure schon in sehr geringen Mengen die Lebensthätigkeit der Hefe aufhebt, ohne sofort die Gährung zu sistiren.

---

1) Schaeffer und Boehm, Sitzb. d. Erlanger Phys. Med. Soc. N. F. III. 238 (1872).
2) Schulz, Virch. Arch. 108. 427 (1887); Pflüg. Arch. 42. 517 (1888).
3) Mann, Ann. Inst. Past. VIII. 785 (1894).
4) Foth, Z. ges. Brauw. 1889. 182.
5) Linossier, Ann. Inst. Past. V. 171 (1891).
6) Knoesel, C. f. Bact. (2.) VIII. (1902).
7) Effront, Bull. Soc. Chim. (3.) V. 148. 476. 731; VI. 786 (1891).
8) Foth, C. f. Bact. I. 502 (1885).
9) Fiechter, Ueb. d. Wirkg. der Blausäure. Diss. Basel 1875.

Die bei den Enzymen oft aufgeworfene und nicht mit völliger Einheitlichkeit beantwortete Frage, inwieweit die Spaltproducte schädigend wirken, erledigt sich bei der alkoholischen Gährung sehr einfach damit, dass hier eins der Spaltproducte, nämlich der Alkohol, in gewissen Concentrationen ein Protoplasmagift ist und damit die Hefe und die Gährung schädigt. Bei 12% Alkohol wird das Wachsthum der Sacharomyceten gehemmt, bei 14% erlischt jede Energieäusserung. Mucorhefen stellen ihre Thätigkeit bereits bei $3^1/_2$—4%, Mucor stolonifer schon bei 1,3% ein[1]); doch giebt es auch Sacharomyceten, die gegen Alkohol sehr empfindlich sind, wie z. B. eine von Prior[2]) untersuchte Bierhefe vom Typus Saaz, und auch der alkoholbildende Pilz der Kojihefe (s. o.).

Bedeutung des Sauerstoffs und Pasteur's Theorie der Gährung. Dass die alkoholische Gährung der Zuckerarten nicht unter allen Umständen untrennbar mit dem Lebensprocess der Hefe im Zusammenhang steht, dafür liefert auch das Studium der fermentativen und vitalen Vorgänge unter dem Einfluss grösserer oder geringerer Sauerstoffzufuhr Belege. Die Behandlung dieser Frage erscheint um so wichtiger, als auf Grund dieser Beeinflussung durch den Sauerstoff die einzige wirkliche Theorie der alkoholischen Gährung von Pasteur aufgestellt und von den Anhängern der vitalistischen Anschauung vertreten wurde. Wir müssen deshalb auf diesen Punkt ausführlicher eingehen.

Zunächst können wir das eine Factum als unbestritten hinstellen, dass der Hefepilz zu seiner Fructification unbedingt des freien Sauerstoffes bedarf, wie dies von Reess[3]) mit Sicherheit nachgewiesen worden ist.

Nicht so einstimmig beantwortet ist dagegen die Frage, inwieweit die rein vegetative Energie der Hefezellen, inclusive ihrer Vermehrung durch Sprossung, und ihre fermentative Wirkung sich bei verschiedener Sauerstoffzufuhr gestaltet.

Pasteur machte die theoretisch für ihn so folgenschwere Entdeckung, dass die Hefepilze bei reichlicher Sauerstoffzufuhr eine sehr energische Vermehrung zeigten, dass dagegen ihre Gährwirkung relativ gering ist; umgekehrt entfalten sie, bei geringerer Proliferation, eine viel lebhaftere Gährthätigkeit, wenn der Sauerstoff ganz oder nahezu abgeschlossen wird. Pasteur benutzte dieses Verhalten der Hefe dazu, um aus ihm seine Theorie der Alkohol-

1) cit. n. Flügge, Microorgan. 1896. S. 229.
2) Prior, Centr. f. Bact. (2.) I. 432 (1895).
3) Reess, Botan. Unters. üb. Alkoholgährungspilze, l. c. S. 15.

bildung zu induciren. Er sagt, dass die Alkoholgährung ein „Leben ohne Luft“ (vie sans air) sei, d. h. dass der gewissermassen in einer Zwangslage sich befindliche Pilz den ihm zur Entfaltung seiner vitalen Energie dringend nöthigen Sauerstoff dem Zucker entzieht und daraus Kohlensäure in seinem Organismus bildet, während er den nicht verwendeten Rest als Alkohol etc. secernirt. Dies die Pasteur'sche Theorie, auf deren Kritik wir später eingehen werden; zunächst sollen uns die thatsächlichen Befunde beschäftigen.

Pasteur hatte den Nachweis geführt, dass reichliche Lüftung die Vermehrung der Hefe begünstigt; er nahm ohne weiteres den Sauerstoff als das dabei wirksame Agens an; doch zeigten Versuche von Neubauer[1]) und Hansen[2]), dass auch Lüftung mit anderen Gasen und auch das Schütteln ohne Sauerstoffzuleitung ähnliche Erfolge zeitigten. Es scheint also nicht gerade der Sauerstoff als solcher zu sein, der die Vermehrung der Hefe veranlasst.

Andererseits trat aber den Pasteur'schen Versuchen Brefeld[3]) zur Seite, der die Pasteur'sche Anschauung, dass bei Sauerstoffabschluss Gährung, bei Sauerstoffzufuhr Leben und Wachsthum der Hefe gedeiht, in extremster Weise weiterführte, daraus aber theoretisch gerade eine Waffe gegen Pasteur's vitalistische Theorie zu schmieden suchte. Brefeld bemüht sich zunächst, den Nachweis zu führen, dass der Hefe für ihren Lebensprocess der freie Sauerstoff unentbehrlich ist; er versuchte zu demonstriren, dass die Hefezelle in sauerstofffreier Atmosphäre unter dem Mikroskop direct Absterbungserscheinungen erkennen lässt; er versuchte fernerhin nachzuweisen, dass die Hefezellen eine grosse Affinität zum Sauerstoff besitzen, und dass sie aus schwach sauerstoffhaltigen Medien den Sauerstoff bis auf die letzten Spuren verzehren. So lange nun Sauerstoff vorhanden ist, so lange lebt und sprosst die Hefezelle im normalen Lebensvorgang; erst mit dem Verschwinden des Sauerstoffs hört das Wachsthum völlig auf und dann erst beginnt die Gährung. Gährung und Wachsthum gehen nach Brefeld niemals miteinander; eins schliesst das andere aus. Die Gährung ist ein krankhafter, mit dem Tode der Hefe endigender Process. Insofern widerstrebt er der Anschauung Pasteur's, dass die alkoholische Gährung zwar eine den veränderten Bedingungen angepasste, aber doch in diesem Rahman normale Lebensäusserung sei. Brefeld blieb aber den Nachweis schuldig,

1) *Neubauer, Ann. d. Oenolog. IV. S. 68.
2) Hansen, Meddelelser fra Carlsberg Labor., cit. n. Mayer, l. c. S. 153.
3) Brefeld, Verh. Phys. Med. Soc. Würzburg 1873. S. 163; Chem. Ber. VII. 281. 1066; VIII. 421 (1875); Landw. Jahrb. III. (1876).

dass wirklich die Hefe bei der Gährung nicht wächst und dass, wie er es verlangt, erst mit dem völligen Verschwinden des Sauerstoffs die Gährung einsetzt. Brefeld's Behauptungen wurden denn auch sehr bald von Pasteur selbst, besonders aber von Moritz[1]) und Traube[2]) energisch angefochten.

So führte Traube den Nachweis, dass bei Abschluss von Sauerstoff Hefe sich auch auf den besten Nährböden nicht entwickelt, dass dagegen ausgebildete Hefe des freien Sauerstoffes entbehren kann.

Es ergab sich denn auch bald unwiderleglich, dass einerseits bei Sauerstoffabschluss Wachsthum neben Gährung, andererseits bei Anwesenheit von Sauerstoff Gährung neben Wachsthum stattfindet. Mayer[3]) bemerkt sehr einleuchtend, dass sich Brefeld's Ansichten verwirklichen, wenn man zwei Endstadien des Processes betrachtet: einerseits ganz junge Hefe, die bei reichlicher Anwesenheit von Sauerstoff üppig wächst, ohne zu gähren; und andererseits alte, schwache Hefe, die bei Abschluss von Sauerstoff nur noch gährt, ohne weiter zu wachsen; dass dagegen für die durchschnittlichen Bedingungen beide Vorgänge parallel gehen. Man kann also mit Recht die Sache so auffassen, dass zwar die Sauerstoffzufuhr die Gährkraft, die Fermentproduction der einzelnen Hefezelle schwächt, dagegen nicht aufhebt; in der Praxis gestaltet sich die Sache so, dass die „gelüftete“ Hefe trotz der geringeren Energie der Einzelzelle doch in toto mehr Alkohol producirt, da dieser Mangel durch eine gesteigerte Neuproduction von Zellen übercompensirt wird (Pedersen[4])).

Jedoch ist nicht einmal die Behauptung, dass der Sauerstoff die Gährthätigkeit schwächt, ohne Widerspruch geblieben. Nägeli[5]) glaubte sogar eine directe Förderung durch Sauerstoff erwiesen zu haben. Allerdings ist diese Ansicht Nägeli's bei einer erneuten Aufrollung der Frage, besonders von A. Mayer[6]) und Giltay und Aberson[7]) widerlegt worden. Die letzteren Autoren wiesen in sorgfältigen Versuchen nach, dass bei lebhaftem Wachsthum unter reich-

1) Moritz, Chem. Ber. VII. 156. 436 (1874).

2) Traube in verschied. Abhandl. Chem. Ber. VII—XV. s. a. s. ges. Abhandl. Berlin 1899.

3) A. Mayer, l. c. S. 155.

4) Pedersen, Meddelelser fra Carlsberg Labor. IV. 1878, cit. n. Mayer, l. c. S. 156.

5) Nägeli, Theorie der Gährung. München 1879.

6) A. Mayer, Landw. Versuchsstat. 25. 301.

7) Giltay und Aberson, Pringsheim's Jahrb. 26. 543 (1894).

licher Durchlüftung nur 75 % des Zuckers vorschriftsmässig fermentirt wurden, während bei Abschluss von Sauerstoff bis an 90 % der alkoholischen Gährung unterlagen. Jedoch nehmen wieder Andere, so z. B. A. Brown[1]) bei gleichbleibender Anzahl der Hefezellen eine sehr kleine Beförderung der Alkoholproduction bei Sauerstoffzufuhr an. Nach Buchner und Rapp[2]) ist er unter normalen Verhältnissen fast gleichgiltig, aber eher schädlich als nützlich. Wir müssen also nach alledem als erwiesen ansehen, dass der freie Sauerstoff die Hefevegetation fördert, die Gährung nur in sehr geringem Maasse beeinträchtigt. Besonders prägnannt sind die Versuche von Buchner und Rapp[2]), die selbst bei Züchtung der Hefe auf der Luft preisgegebenen Zuckergelatineplatten noch immer kräftige Gährung beobachten konnten, so dass noch ca. $^6/_7$ des Zuckers wirklich vergohren wurden, nur $^1/_7$ im Stoffwechsel der Zellen verbrannt.

Wir müssen nun zusehen, in welchem Sinne sich diese Thatsachen theoretisch in unsere Anschauungen von dem Wesen der Fermentprocesse im Allgemeinen und der alkoholischen Gährung im Besonderen einfügen lassen.

Pasteur's radicale Anschauung und seine daraus folgende Theorie der Alkoholgährung ist nach dem oben Gesagten nicht mehr haltbar. Wenn die Hefe auch bei Sauerstoffanwesenheit gährt, so kann man füglich nicht mehr davon sprechen, dass es die Abwesenheit von Sauerstoff ist, welche sie zu einer intensiven Umänderung ihres Stoffwechsels im Sinne einer alkoholischen Fermentation des Zuckers zwingt. Alle Versuche, Pasteur's Anschauung und Theorie bedingungsweise und eingeschränkt aufrecht zu erhalten, müssen vergeblich sein. Er selbst hat mit aller Entschiedenheit den Nachdruck auf diesen einen Punkt gelegt. Entweder ist die alkoholische Fermentation „une vie sans air“, oder sie ist es nicht; Compromisse sind da nicht zu schliessen. Nun, die experimentellen Thatsachen sind gegen Pasteur, und damit ist seine Theorie, die einzige Theorie der vitalistischen Anschauung, gestürzt, und was übrig bleibt, ist eben nur noch die Unterordnung der geformten Fermente unter den Lebensprocess, die gleichbedeutend ist mit dem Verzicht auf jede dynamische Erklärung.

Der Sturz der Pasteur'schen Theorie ist die erste wichtigste Folge unserer besseren Einsicht in die Bedeutung des Sauerstoffs für die Hefepilze.

---

1) A. Brown, Journ. Chem. Soc. 61. 369 (1892).

2) Buchner und Rapp, Z. f. Biol. 37. 82 (1899), (ausführliche Litteratur); ferner dieselben in E. und H. Buchner und Hahn, l. c. Theil IV.

Was aber lehren uns diese Thatsachen für unsere energetische Auffassung der Fermentvorgänge?

Sie zeigen uns mit grosser Deutlichkeit, dass es ungemein wichtige Factoren giebt, die den Lebensvorgang der Hefe in anderem Sinne beeinflussen als die Fermentaction. Der freie Sauerstoff erhöht die vitalen Vorgänge der Pilze, erniedrigt, wenn auch nicht gerade sehr erheblich, ihre Fermentproduction.

Wir nehmen dabei an, dass wirklich die fermentative Kraft an sich herabgesetzt ist, und nicht blos dadurch die relative Verminderung der Alkoholproduction herbeigeführt wird, dass die lebhaft athmende Hefe einen relativ grösseren Theil des Zuckers direct verbraucht und verbrennt. Einen directen Beweis dieser sehr wichtigen Annahme, der auf einer parallel gehenden Messung nicht nur des Alkohols, sondern auch der etwa ausser im typischen Gährprocess noch durch Athmung abgesonderten Kohlensäure beruhen müsste, haben wir indessen vergeblich gesucht. A. Mayer[1]) giebt nur ganz kurz an, dass bei lebhaft wachsender Hefe ein Theil des Mehrverbrauchs an Zucker auch „die Folge einer directen Zuckeroxydation im Sinne der gewöhnlichen Athmung" ist, ohne aber auf die grundlegende Frage nach dem Verhältniss Alkohol zu Kohlensäure unter diesen verschiedenen Bedingungen einzugehen. Wir wollen indessen, da eine Entscheidung ohne experimentelle Untersuchung nicht möglich ist, annehmen, dass wirklich die fermentative Kraft an sich herabgesetzt ist, wie dies ja a priori wegen der grossen Differenzen anzunehmen ist. Bei sehr reichlicher Sauerstoffzufuhr tritt allerdings nach Buchner und Rapp[2]) eine merkbare directe Oxydation des Zuckers ein.

Wenn wir nicht mehr mit Pasteur annehmen dürfen, dass durch totalen Sauerstoffmangel der ganze Lebensvorgang der Pilze so gewaltig umgewälzt wird, dass sie nunmehr in völlig abgeändertem Stoffwechsel dem Zucker den zu ihrem Leben nöthigen Sauerstoff entnehmen, so wird die Vorstellung, dass durch Schwankungen im Sauerstoffgehalt zwar der sonstige Stoffwechsel intensivirt, aber gerade der Alkoholstoffwechsel, um uns auch dieses kurzen Ausdruckes zu bedienen, in seinem Umfange reducirt wird, zu einer uns nicht im geringsten theoretisch weiterführenden Annahme, der gegenüber schwere Bedenken nicht zu unterdrücken sind. Wir wissen doch durch E. Buchner, dass die Hefezelle ein Enzym producirt; um wie viel einfacher und theoretisch bedeutsamer lässt sich die Einwirkung des Sauerstoffs erklären, wenn wir annehmen, dass der freie Sauerstoff

1) A. Mayer, l. c. S. 159.
2) Buchner und Rapp, l. c.

zwar, wie bei allen Lebewesen, den ganzen Lebensvorgang als solchen lebhafter gestaltet, dass er dagegen die Fermentproduction einschränkt.

Wir kommen also auch durch diese Ueberlegung wiederum zu dem schon so oft gezogenen Schlusse, dass Lebensvorgänge und Fermentprocesse zwar in dem Sinne zusammengehören, dass die Fermentwirkungen ein sehr wichtiges Werkzeug für die Entfaltung der Lebenserscheinungen sind, dass wir aber kein Recht haben, ohne weiteres beide zu identificiren. Sie sind theoretisch von einander unabhängige, parallel laufende Processe.

Wenn wir diese Anschauung vertreten wollen, so müssen wir aber auch der Frage näher treten, welche physiologische Bedeutung dies alkoholisirende Ferment überhaupt für die Hefezelle hat.

Die gewöhnliche Function der ungeformten Fermente, aus unbrauchbaren Nährstoffen durch Spaltung assimilirbare, lösliche Producte zu schaffen, hat das alkoholisirende Ferment der Hefe nicht. In diesem Sinne hat Nägeli[1]) mit vollem Recht den Unterschied zwischen der Alkoholgährung und der Wirkung der Enzyme im engeren Sinne betont, wenn ich auch die weittragende theoretische Bedeutung für das Wesen der Fermentprocesse überhaupt, die er dieser Differenz beimisst, ablehnen muss. Es liegt hier ein teleologisch-biologischer Unterschied vor, der aber bei einer rein theoretischen Betrachtung der Fermentprocesse als energetische Einheit ausser Betracht bleibt. Indessen wird dadurch seine Wichtigkeit für die Beurtheilung der physiologischen Function der Fermente nicht herabgesetzt. Das Alkoholferment der Hefe ist kein Ernährungsenzym im oben angegebenen Sinne, denn weder der Alkohol, noch die Kohlensäure dienen der Hefe als Nährstoff; der erstere wird nicht in Anspruch genommen, da der Zucker eine viel bessere Nährquelle darstellt; die Kohlensäure kann die Hefezelle nicht assimiliren, da sie kein Chlorophyll besitzt. Welches ist also die physiologische Function des Ferments der Hefe? Wir können kaum anders annehmen, als dass das Ferment die Function hat, der Hefezelle durch die von ihm eingeleitete exothermale Reaction Energie zuzuführen.

Wir wissen aus zahlreichen Beispielen, dass alle Fermente im Wesentlichen nur dann producirt werden, wenn der Organismus sie braucht.

Solange z. B. Schimmelpilze genügend Traubenzucker in ihrem Nährmedium vorfinden, bilden sie keine Enzyme, und solange der ruhende Embryo des Pflanzensamens nicht das Bedürfniss hat, die ihm

1) Nägeli, Theorie der Gährung. München 1879 (s. S. 7).

mitgegebenen Reservestoffe anzugreifen, ist eine Enzymproduction nicht vorhanden.

Mit Hilfe dieser Thatsachen müssen wir versuchen, auch die Wirkung des Sauerstoffs auf die Fermentproduction zu erklären. Es giebt der Hefe sehr ähnliche Sacharomyceten, wie den S. Mycoderma, der ausschliesslich an der Luft lebt, niemals Fermente producirt und bei Luftabschluss zu Grunde gehen muss. Er hat kein Mittel, um bei fehlendem Sauerstoff seine Lebensenergie zu erhalten.

Dieses Mittel steht anderen Microorganismen zu Gebote[1]). Die Mucorarten leben für gewöhnlich auch aërob, ohne Alkoholferment zu produciren; wenn man sie aber unter Luftabschluss weiter züchtet, so erlangen sie die Fähigkeit, ein Ferment zu produciren, das ihnen durch seine exothermalen Processe die Energie liefert, die sie nicht wie die Chlorophyllpflanze aus der zugeführten Sonnenenergie entnehmen und nicht, wie unter normalen Verhältnissen, durch Athmung in exothermalem Vorgang selbst bilden können, so lange ihnen der dazu nöthige Sauerstoff fehlt. Ganz analog verhalten sich, wie wir oben gesehen haben, auch chlorophyllose Organe höherer Pflanzen, wie Samen, Wurzeln, Früchte, die ebenfalls bei Sauerstoffabschluss in alkoholischer Gährung den Zucker verbrennen, und auch thierische Organe. Für sie bleibt aber die Fermentbildung ein Nothbehelf, den sie sofort wieder fallen lassen, wenn sie in normale Lebensbedingungen (Sauerstoffzufuhr) zurückgelangen.

An diese Fähigkeit, dem rein vitalen Oxydationsvorgang durch Fermentproduction eine Unterstützung zur Seite zu stellen, sind nun die echten Hefepilze in so hohem Maasse angepasst, dass sie ihre Anwendung selbst dort herbeiziehen, wo ihnen bei Anwesenheit von freiem Sauerstoff die Möglichkeit geboten wäre, ohne dieses Hilfsmittel auszukommen, und dass es nicht möglich ist, sie wieder zum aëroben, fermentlosen Leben zurückzuführen; andererseits sind sie durch seine ausgiebige Anwendung in der Lage, ihre gesammte vitale Energie mit seiner Hilfe auch dann in vollem Maasse lange Zeit hindurch zu bestreiten, wenn ihnen durch völligen Abschluss des Sauerstoffes jede andere Energiequelle verschlossen wird. In der quantitativen Ausnutzbarkeit dieses Hilfsmittels unterscheiden sie sich von den Mucorarten, die, weil normalerweise aërob und fermentlos lebend, weniger reichlich damit versehen sind, so dass bei ihnen im anaëroben Leben die vegetativen Fähigkeiten mit der Fermentproduction schneller verschwinden, als bei den Hefepilzen; freilich ist auch

1) s. über die Frage der Beziehung zwischen Anaërobiose und Fermentwirkung im Allg. Liborius, Z. f. Hyg. I. 115 (1886/87).

bei diesen, wie Brefeld gezeigt hat, die Fähigkeit zum anaëroben, nur mit Hilfe der Fermentproduction ermöglichten Leben nicht ohne Grenzen: schliesslich stirbt auch die Hefezelle bei Sauerstoffabschluss ab, wenn die Fermentwirkung erlischt.

Andererseits muss die Hefe bei mangelndem Substrat für die Fermentation einen Theil ihrer eigenen Substanz fermentiren, um dem Rest die Lebensenergie zu liefern, wie dies bei der oben erwähnten „Selbstgährung“ der Hefe geschieht.

Wir kommen also auf diesem Wege, von ganz anderen theoretischen Grundlagen ausgehend, zu ähnlichen physiologischen Erwägungen, wie sie Pasteur angestellt hat. Die Fermentproduction ist der physiologische Ersatz für die freie Athmung zur Erzeugung der nothwendigen Lebensenergie, aber nicht ist der Stoffwechsel bei Sauerstoffabschluss die Fermentation selbst. Diese Anschauung ist, abgesehen von unserer Gesammtauffassung der Fermentprocesse überhaupt, durch Buchner's Befunde hinfällig geworden.

In ähnlicher Weise, wie für die Hefezelle, können wir auch für die Alkoholbildung, die bei Sauerstoffabschluss in den Organen der höheren Pflanzen und Thiere (s. o.) eintritt, eine dynamische Erklärung suchen. Die Production von Fermenten, die exothermale Processe auslösen, scheint ein überall zu findendes Hilfsmittel zu sein, um die nöthige Lebensenergie auch bei Abschluss des Sauerstoffes, wenn auch nur eine Zeit lang, zu erhalten. Vielleicht ist auch die Milchsäurebildung in thierischen Organen, wie sie bei starkem Sauerstoffverbrauch, z. B. im arbeitenden Muskel und bei der Phosphorvergiftung auftritt, in ähnlicher Weise auszulegen.

...stes Capitel.

...xydasen.

... grossen Theil in die letzten Jahre
... auf den klassischen Arbeiten Schön-
... übertragende, oxydative Fermente.
... der Natur. Sie scheinen ähnlich wie
... wichtige Function im Stoffwechsel

... sowohl bei pflanzlichen als bei

... der thierischen Gewebe.

... verbrennlicher Stoffe im thierischen
... der Ernährung im engsten Zusammen-
... die Physiologen beschäftigen. Und
... Phänomen, dass der thierische
... schwer oxydirbare Stoffe, wie die
... Temperaturen und energische chemische
... ist, so leicht oxydirbare Substanzen,
... unverändert durch seine Gewebe passiren
... speciell den Abbau der Nahrungsmittel
... process, als eine Wirkung der unge-
... zurückführen lernte, da blieben
... dass dem lebenden Organismus die
... leichtverbrennliche, autoxydable Stoffe
... die ausserhalb des Organismus sehr
... Mittel, desoxydabel (Traube) sind.
... als Phenol, Toluol als Benzoësäure

... 413; s. a. Hahn, Berl. klin. Woch. 1897. 499.
... Dubois Arch. 1867. 319; Baumann und
... 1877.

Man suchte natürlich nach Erklärungen für diese Thatsachen. Hoppe-Seyler[1]) gründete seine Anschauung darauf, dass in den Geweben starke Reductionsprocesse sich abspielen, die man nach dem Vorgang von Ehrlich[2]) durch Anwendung von Alizarinblau und andere Farbstoffe[3]) nachweisen kann. Hoppe-Seyler stützte sich nun darauf, dass bei derartigen Reductionsprocessen eine Activirung des molecularen Sauerstoffs O_2 zu O eintreten kann, wie z. B. Palladiumblech, das mit Wasserstoff gesättigt ist, den molecularen Sauerstoff zerlegt, so dass das Palladium z. B. Indigo oxydiren kann. Aehnliche Activirungsvorgänge sollten im Organismus vor sich gehen unter dem Einfluss der Reduction. Es sollten die leicht oxydablen Stoffe als Sauerstoffüberträger wirken.

Gegen diese Ansicht von Hoppe-Seyler wandte sich besonders Traube[4]) in mehreren Arbeiten. Er nahm statt dessen eine „katalytische“ Oxydation, eine „Erregung“ des Sauerstoffs an, wie sie bei der leichten Sauerstoffabgabe des Wasserstoffsuperoxydes in Berührung mit vielen chemischen Stoffen angenommen wird. Er zeigte, dass bei der langsamen Oxydation der „autoxydablen“, d. h. leicht oxydirbaren Stoffe, keine Activirung molecularen Sauerstoffs eintritt, und dass schliesslich freie Sauerstoffatome nicht die Fähigkeit der Oxydation „desoxydabler“ Stoffe in dem Grade besitzen, wie Hoppe-Seyler sie ihnen zuschreibt.

In der That zeigten Schönbein[5]) und A. Schmidt[6]), dass thierische und pflanzliche Gewebe solche katalytisch wirkenden Stoffe besitzen, die aus Wasserstoffsuperoxyd activen Sauerstoff frei machen, der z. B. Guajactinctur bläut, was molecularer Sauerstoff nicht thut. Diese katalytische Wirkung nehmen wir nun aber auch für die Enzyme an, und in der That hat auch schon Traube für diesen Fall den Begriff des Oxydationsfermentes geschaffen.

Es scheinen hier nun in der That enzymartige Substanzen wirksam zu sein. Mit der Reduction haben diese Oxydationsprocesse nicht die enge Verbindung, die Hoppe-Seyler ihnen zuschreibt. Denn nach den Befunden von Spitzer[7]) wirken die glycolytischen Extracte nicht

---

1) Hoppe-Seyler, Chem. Ber. XVI. 117. 1917 (1883).

2) Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus. Berlin 1885.

3) s. a. Harris, Journ. of anat. and physiol. 31. 381.

4) Traube, Chem. Ber. XV. 659. 2421. 2434; XVI. 123. 1201, s. a. d. ges. Abhandl. Berlin 1899.

5) Schönbein, Z. f. Biol. I—IV. s. die Zusammenfassung der Schönbein'schen Arbeiten von Schaer, Z. f. Biol. 37. 321 (1899).

6) A. Schmidt, u. a. Pflüg. Arch. VI. 508. s. zu dieser Frage auch Pflüger, sein Arch. X. S. 252 ff.

7) Spitzer, Berl. klin. Woch. 1894. 949.

[illegible] auch nimmt die Reductionskraft der Gewebe nach dem [illegible] noch zu, wo die oxydative bald verschwindet; ferner aber bleibt [illegible] Reductionskraft auch nach dem Kochen erhalten, während das [illegible] Ferment dadurch sofort vernichtet wird.

[illegible] Methoden, mit deren Hilfe man diese Fermente qualitativ [illegible] quantitativ untersuchen kann, sind folgende:

Nachweisen kann man die oxydative Wirkung z. B. mit Hilfe [illegible] Bildung von Indophenolen. Wenn man Organbreie[1]) oder [illegible]) mit einer alkalischen Lösung eines Gemenges von α-Naphthol [illegible] p-Phenylendiamin (resp. Di- oder Tetramethylpara[illegible]) zusammenbringt, so tritt unter Sauerstoffaufnahme [illegible] unter Bildung von Indophenol ein, die zuerst von Ehr[illegible] beobachtet wurde. Röhmann und Spitzer fanden dann, dass [illegible] Organbreie auch ähnliche synthetische Oxydationen, bei denen [illegible] Sauerstoff nöthig sind, vollbringen, z. B. die von In[illegible] und Eurhodinen.

[illegible] Farbenreactionen sind die Bläuung von Guajactinctur, [illegible] färbung von p-Phenylendiamin, die Granatrothfärbung [illegible] Guajacol (Bourquelot[5])), die Dunkelfärbung von Ty[illegible] Oxydation von Phenolphtalin zu Phenolphtaleïn (Kastle [illegible] u. a.

[illegible] nimmt als Medium der Guajacbläuung die Guajacon[illegible] mit Ozon eine blaue Verbindung giebt.

[illegible] andere Methode, die quantitative Wirksamkeit der Enzyme [illegible] von Schmiedeberg[8]) und seinen Schülern her. Sie [illegible] untersuchenden Substanzen auf Salicylaldehyd resp. [illegible] einwirken und bestimmen die gebildeten Mengen von [illegible] colorimetrisch mit Eisenchlorid), resp. Benzoësäure. [illegible] auch Formaldehyd, der zu Ameisensäure. [illegible] Säure, die zu Arsensäure oxydirt wird. Am [illegible] Salicylaldehyd zu eignen. Ferner machen einige [illegible] angesäuertem Jodkalium Jod frei.

[illegible] Spitzer, Chem. Ber. 28. 567 (1895); Spitzer, Pflüg. [illegible]

[illegible] Path. 38. 65.

[illegible] Ber. XIX. 3195 (1886).

[illegible] Rev. 46. 896 (1896).

[illegible] Amer. Chem. Journ. 26. 527 (1901).

[illegible] Centg. 1894. 749.

[illegible] exp. Pathol. XIV. 288. 379; Jacquet, ibid. [illegible] 31. 296.

Die vorhandenen Enzyme scheinen verschiedener Natur zu sein.

Zunächst muss man sich darüber klar werden, was von allen diesen Reactionen wirklich auf Enzymwirkungen zurückgeführt werden kann.

Bourquelot[1]), dem wir auch viel experimentelles Material in dieser Frage verdanken, nimmt für alle diese katalytischen Oxydationen die Uebertragung von Sauerstoff an. Alle diese Processe können also nur bei Gegenwart von freiem Sauerstoff stattfinden.

Er theilt diese oxydirenden Stoffe in vier Gruppen:

Die erste nimmt das Ozon allein ein, das an sich die Fähigkeit dieser Sauerstoffübertragung besitzt, wie es ja auch an sich Guajactinctur bläut.

Die zweite Gruppe sind die „Ozoniden" oder Ozonträger Schönbein's, wie z. B. das Chinon, das in wässeriger Lösung durch das in ihr wirksame Ozon eine Zeit lang alle diese Farbenreactionen giebt, diese oxydirende Kraft indessen bei der Berührung mit vielen organischen Stoffen, wie z. B. Blut, Milch etc. sofort verliert, ebenso beim Erhitzen und beim Stehenlassen.

Die dritte Gruppe Bourquelot's nun sind die echten „Oxydasen", die sich von der zweiten Gruppe dadurch unterscheiden, dass ihre Wirkung nicht an eine bestimmte Quantität des oxydirenden Agens, wie Ozon, gebunden ist, sondern dass sie als echte Fermente so lange Sauerstoff übertragen, bis ihre Thätigkeit durch die für Fermente vernichtenden Agentien, besonders Kochen, aufgehoben wird.

Schliesslich unterscheidet er als vierte Gruppe solche Stoffe, die in Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd, und nur in dieser, oxydirende Wirkungen erzielen, indem sie das H_2O_2 als Quelle für den zu übertragenden Sauerstoff benutzen. Solche Substanzen finden sich auch vielfach in pflanzlichen und thierischen Säften. Abelous und Biarnès[2]) bezeichnen sie als „indirecte Oxydasen", während man sie jetzt wohl allgemein als Peroxydasen bezeichnet (s. u.). Auch ihre Thätigkeit wird durch Kochen zerstört. Wasserstoffsuperoxyd zersetzen zwar die echten Oxydasen auch, wie alle Fermente, aber ihre Oxydationswirkung ist nicht daran gebunden. Im übrigen ist auch hier wahrscheinlich das eigentliche Ferment verschieden von dem H_2O_2 zersetzenden Princip, der Katalase (s. u.).

Wenn man also eine Oxydation solcher Art auf eine echte „Oxydase" zurückführen will, so hat man zunächst auszuschliessen, dass

1) Bourquelot, Soc. Biol. 49. 402 (1899).
2) Abelous und Biarnès, Soc. Biol. 50. 495 (1898).

es sich um eine Ozonwirkung handeln könne; ferner aber muss das Substrat frei von Wasserstoffsuperoxyd sein, mit dessen Hilfe ja auch indirecte Oxydasen wirksam sein können.

Eine von den bisherigen wesentlich abweichende Anschauung vertreten Bach und Chodat[1]), deren Untersuchungen zwar speciell von pflanzlichen Oxydationsfermenten ausgehen, aber doch auch für die Beurtheilung dieser Processe im Allgemeinen Geltung besitzen sollen.
Sie unterscheiden drei Gruppen von Oxydationsfermenten.

1) Die Oxygenasen, eiweissartige Körper, die den molecularen Sauerstoff unter Peroxydbildung aufnehmen und dann auf andere Stoffe übertragen.

2) Peroxydasen, die nur bei Gegenwart von Peroxyden wirken, also den „indirecten" Oxydasen entsprechen. Sie verstärken die an sich schwache Wirkung der Peroxyde.

3) Katalasen, die Hydroperoxyd in Wasserstoff und Sauerstoff zerlegen.

Diese Eigenschaft aller Enzymlösungen und der meisten thierischen und pflanzlichen Gewebe wird also in Uebereinstimmung mit Loew auf besondere Enzyme zurückgeführt. Die Bedeutung dieser Processe für die Theorie der Fermente haben wir im Allg. Theil ausführlich besprochen.

Das Wichtigste an der Anschauung von Bach und Chodat ist demnach, dass der alte Begriff der „directen" Oxydasen für sie überhaupt nicht existirt. In der That erklären sie diese einfach für Gemische ihrer „Oxygenasen" mit Peroxydasen, die bei den gewöhnlichen Darstellungsmethoden (Fällung mit Alkohol) nicht getrennt werden. Die Oxygenasen wirken ausser bei Gegenwart von Peroxydasen auch mit Hilfe gewisser Manganverbindungen (s. u.).

Die Trennung der Oxygenasen von den Peroxydasen gelang Bach und Chodat durch fractionirte Fällung mit Alkohol, zuerst aus Pilzoxydasen (Russula und Lactarius). Beide Antheile wirken getrennt fast garnicht, sie activiren sich aber gegenseitig.

Die Oxygenasen sind danach also peroxydartige Körper, die durch Bindung von molecularem Sauerstoff sich bilden und bei Gegenwart der Peroxydasen nun sehr activen Sauerstoff an die oxydablen Stoffe abgeben. Damit ist der älteren Ansicht, dass die „Oxydasen" derartige Peroxyde sind, ein etwas modificirter präciserer Hintergrund gegeben, einer Ansicht, der zuerst Bach[2]), später auch Kastle und

1) Bach und Chodat in einer Reihe von Arbeiten in den Chem. Ber. 35 36, vgl. ihre Zusammenfssung: Biochem. Centralblatt I. Nr. 11/12 (1903).
2) Bach, C. R. 124. 951.

Loevenhart[1]), sowie Engler und Wöhler[2]) Ausdruck gegeben hatten. Kastle und Loevenhart ziehen infolgedessen mit Recht ihre wirkliche Enzymnatur in Zweifel und sehen den Vorgang als einen mehr chemischen an. Die leichtoxydablen Stoffe nehmen O unter Peroxydbildung auf und geben dann das activ gewordene Peroxydsauerstoffatom an schwer oxydable Substanzen ab. Da die Oxygenasen aus mehr oder minder beständigen Peroxyden bestehen, werden sie häufig schon durch Wasser zersetzt, indem sich H_2O_2 bildet, und sind dann nicht nachzuweisen.

Wenn diese Angaben von Chodat und Bach sich allgemeine Geltung verschaffen würden, so hätte man dem zufolge das, was man von den „Oxydasen" im engeren Sinne, d. h. von den directen Oxydasen Bourquelot's beobachtet hat, auf diese Gemische resp. auf die Oxygenasen zu übertragen.

Vorläufig erscheint es mir zweckmässiger, unter diesem Vorbehalt die Fermente noch als Oxydasen im Allgemeinen zu beschreiben.

Eigenschaften der Oxydasen. Es sind eiweissartige Stoffe, die die gewöhnlichen Reactionen der Fermente (Fällung durch Alkohol, Ammonsulfat etc.) zeigen (Slowtzoff[3])); durch Hitze (ca. 70°) und Chemikalien, wie Säuren, Alkalien, Sublimat, Fluornatrium, Kieselfluornatrium (Aso[4])) wird ihre Thätigkeit aufgehoben.

Für die Existenz beständigerer Zymogene, speciell bei pflanzlichen Oxydasen, sprechen Beobachtungen von Woods[5]) und Aso.

Die Peroxydasen.

Peroxydasen sind nach der jetzt wohl allgemein angenommenen Nomenclatur, die von Linossier[6]) herrührt, die Stoffe, die die Peroxyde, besonders Hydroperoxyd activiren und dadurch Oxydationsprocesse einleiten. Auch sie haben mit der Katalase, die H_2O_2 katalytisch zerlegt, nichts zu schaffen.

Die Peroxydasen sind viel beständiger als die Oxydasen. So gelingt es durch Zerstörung der letzteren (durch Hitze oder gewisse Chemikalien, wie Fluornatrium (Aso), die Peroxydasen allein zu beobachten.

Bach und Chodat (l. c.) fanden, dass in Kürbisfrüchten und Meerrettigwurzeln nur Peroxydase vorkommt, die sie nach Waschen

1) Kastle und Loevenhart, Amer. Chem. Journ. 26. 539 (1901).
2) Engler und Wöhler, Z. f. anorg. Ch. 29. 1 (1902).
3) Slowtzoff, Z. phys. Ch. 31. 227 (1900/01).
4) Aso, Bull. Coll. Agric. Tokio V. 2. 226; Chem. Centr. 1902. II. 1418.
5) Woods, U. S. Dep. of Agricult. Nr. 18, 17; cit. n. Bach und Chodat, l. c.
6) Linossier, Soc. Biol. 50. 373 (1898).

mit 80% Alk. mit 40 proc. Alk. extrahirten und mit absolutem Alk. fällten. Sie erhielten so geringe Mengen einer hygroskopischen Substanz, die keine Eiweissreactionen mehr gab. Sie enthält kein Eisen, aber Mangan und wird bei 70° zerstört.

Es giebt mindestens 2 Arten von Peroxydase, eine, die kräftiger auf H_2O_2 als auf Oxygenasen wirkt, und eine, die das umgekehrte Verhalten zeigt (Aso, Bach und Chodat).

Die Katalase ist zuerst von Loew[1]) aus Tabaksblättern isolirt worden, lässt sich aber auch aus anderen Materialien, z. B. Schimmelpilzculturen erhalten. Loew nimmt eine unlösliche und eine lösliche Form an (α- und β-Katalase). Erstere soll ein Nucleoproteïd, letztere eine Albumose sein. 80° zerstört sie. Verdünnte Säuren wirken fördernd, Alkalien hemmend. Ihre Function ist ausschliesslich die Zerlegung von H_2O_2 in H_2 und O_2.

Thierische Oxydasen.

Von den thierischen Oxydasen ist die den Saliylaldehyd und andere ähnliche Stoffe oxydirende, die Salicylase (Abelous) oder Aldehydase. am eingehendsten untersucht.

Im lebenden Organ ist das Enzym an die Zelle gebunden; es kann deshalb im überlebenden Organ und in frischen Organbreien beobachtet werden (Jacquet[3])). Dagegen sind Glycerin- oder Chloroformwasserextracte der lebenden Organe unwirksam, wohl aber die der abgestorbenen (Pohl, l. c.). Es giebt keine Indophenolreaction.

Die oxydirende Kraft der überlebenden Organe wird weder durch Gifte, noch durch Erfrieren gehindert (Jacquet). Nur Blausäure und Hydroxylamin wirken hemmend (Röhmann und Spitzer[4])). 80 proc. Alkohol schadet dem Ferment nichts, es kann sowohl das Organ mit Alkohol behandelt werden, als auch das Ferment durch Alkohol gefällt und in trockenem Zustande aufbewahrt werden; es bleibt wirksam. 96 proc. dagegen scheint es langsam zu vernichten (Schwiening[5])), ebenso Alkalien und Säuren (Spitzer). In Wasser ist es leicht löslich. Bei 60° wirkt es am besten, bei 100° wird es sehr schnell vernichtet (Abelous und Biarnès[6])). Abelous und

1) Loew, Bull. Agric. Dep. of Agricult. Washington 1900.

2) Bourquelot, Soc. Biol. 50. 381 (1898); vgl. Jacobson, Z. phys. Ch. XVI. 340.

3) Jacquet, Arch. f. exp. Pathol. 29. 386.

4) Röhmann und Spitzer, Chem. Ber. 28. 567 (1895).

5) Schwiening, Virch. Arch. 136. 478.

6) Abelous und Biarnès, Arch. d. physiol. 1895. 195. 239; Soc. Biol. 48. 97. 262 (1896).

Biarnès haben ferner bei der Wirkung des Fermentes den Verbrauch von Sauerstoff und die Abspaltung von Kohlensäure experimentell erwiesen.

Ueber die Wirksamkeit der einzelnen Organe ist Folgendes angegeben: Das Blut führt keine Oxydase nach Jacquet), nach Salkowski[1]) und Abelous und Biarnès[2]) sehr wenig. Nach den letzteren wirken Muskel, Nerven und Pankreas fast gar nicht, Leber, Lunge, Milz sehr energisch. Cavazzani[3]) hat eine Oxydase in der Cerebrospinalflüssigkait gefunden. Nach Abelous sollen die Organe junger Thiere mehr Ferment enthalten.

Jacoby[4]) hat die Salicylase nach verschiedenen Richtungen hin untersucht. Er fand sie unwirksam auf Natriumthiosulfat, Essigsäure und Stearinsäure. Letzteren Versuch hatte er mit Rücksicht auf die mögliche Bildung von Zucker aus Fett durch Oxydation angestellt, die im Körper stattfinden soll.

Chloroform erwies sich in kleinen Dosen etwas befördernd, in grosser Concentration hemmend. Exquisit schädlich dagegen zeigten sich Soda, die in 1 proc. Lösung die Fermentwirkung aufhebt, und noch mehr Natronlauge, aber auch verdünnte Säuren.

Jacoby[5]) hat später das Ferment aus der Leber durch fractionirte Ammonsulfatfällung und Reinigung, durch Fällen der Eiweissstoffe mit verdünntem Alkohol und Uranylacetat, gewonnen. Es gab keine Eiweissreaction. Es dialysirt schwer oder gar nicht, geht aber durch Chamberlandfilter. Alkohol und Uranylacetat fällen. Die Aldehydase wird bei der Oxydirung von Salicylaldehyd nicht verbraucht, ist also ein echtes Ferment. Es findet sich auch in den Nebennieren; im Blut sehr wenig, in der Galle garnicht.

Medwedew[6]) hat versucht, die Wirkung des Fermentes bereits in mathematische Formeln zu bringen. Er behauptet nämlich, dass „die Menge der in 1 Volumeinheit gebildeten Salicylsäure proportional ist dem Quadrat der Concentration des Oxydationsfermentes und umgekehrt proportional der Quadratwurzel aus der Concentration des Salicylaldehyds“. Danach hätte die Aldehydase ein ganz anderes Zeitgesetz als die hydrolytischen Fermente, bei denen die Wirkung der Quadratwurzel der Fermentmenge

---

1) Salkowski, Z. phys. Ch. VII; Centralbl. med. Wiss. 1894. 913; Virch. Arch. 147. 1.

2) Abelous und Biarnès, Arch. d. physiol. 1895. 195. 239; Soc. Biol. 48. 97. 262 (1896).

3) Cavazzani, Cbl. f. Phys. XVI. Nr. 19 (1902).

4) Jacoby, Virch. Arch. 157. 235 (1899).

5) Jacoby, Z. phys. Ch. 30. 135 (1900).

6) Medwedew, Pflüg. Arch. 65. 249 (1897).

proportional ist. Andererseits giebt Slowtzoff (l. c.) für die Laccase an, dass sie in Bezug auf die Farbstoffbildung aus Paraphenylendiamin der Schütz'schen Regel folge; aus seinen angegebenen Zahlen kann man dies allerdings mit einiger Phantasie herauslesen. Derartige Speculationen scheinen um so mehr verfrüht zu sein, als die eigentliche Fermentnatur dieser Processe immer energischer in Zweifel gezogen werden muss.

Ausser diesem Salicylaldehyd oxydirenden Ferment kommen noch andere im thierischen Körper vor.

Man kann nach den bis jetzt vorliegenden Ergebnissen ausser der Aldehydase ungefähr folgende Enzyme unterscheiden:

Das nur in der Leber und Milz, beziehungsweise deren Extracten vorhandene Agens, das specifisch auf Purinderivate wirkt. Spitzer[1]) gelang es, mit Hilfe dieser Extracte Xanthin (Oxypurin) und Hypoxanthin (Dioxypurin) bei 24 stündigem Digeriren unter Ausschluss von Fäulniss fast quantitativ in Harnsäure überzuführen, die ein Trioxypurin ist. Adenin und Guanin wurden nur theilweise oxydirt.

Die dritte Hauptgruppe stellen die Oxydasen dar, die Guajactinctur bläuen, dagegen auf Salicylaldehyd ohne Einwirkung sind (Abelous und Biarnès[2])). Sie nähern sich den später zu besprechenden pflanzlichen Oxydasen.

Ihr Typus ist die von Abelous und Biarnès[2]) sogenannte Globulin-Oxydase, die in Wasser unlöslich ist. Sie fanden sie im Blut und in frischen Lösungen von Fibrin in neutralen Salzen, sowie im Rückstand einer oberflächlichen Trypsin-, resp. Papaïnverdauung, während das Filtrat sich unwirksam erwies, und in verschiedenen Organen. Sie halten sie für ein mit einem Globulin fest verbundenes Enzym, ähnlich wie Traube's[3]) Oxydationsferment mit dem Myosin. Nach Portier[4]) hängt sie indessen nicht mit dem Fibrin zusammen, sondern entstammt den Leukocyten.

Ebenfalls guajacbläuende Oxydasen in Thieren fand Giard[5]) in zwei Ascidien, Piéri und Portier[6]) im Blut, den Fühlern und Kiemen von Muscheln (Artemis exoleta und Ostrea edulis [Auster]), Abelous und Biarnès[7]) und Hugounencq und Paviot[8]) in

1) Spitzer, Pflüg. Arch. 76. 192 (1899).
2) Abelous und Biarnès, Soc. Biol. 49. 285. 493. 559. 576; 50. 495. Arch. d. physiol. 1898. 664.
3) Traube, Chem. Ber. XV. 659 (1882).
4) Portier, Soc. Biol. 50. 452 (1898).
5) Giard, Soc. Biol. 48. 483 (1896).
6) Piéri und Portier, C. R. 123. 1314; Arch. d. phys. 1897. 61.
7) Abelous und Biarnès, Soc. Biol. 49. 175. 249.
8) Hugounencq und Paviot, Soc. Biol. 48 (1896).

Krebsen, Biedermann[1]) im Darmsaft des Mehlwurms (Tenebrio molitor).

Carnot[2]) fand ein solches im Speichel aller Menschen und z. B. des Hundes, desgl. im Nasensecret, Eiter und Thränenflüssigkeit. Er vermisste es in Harn, Galle und Darmsäften, fand es spurenweise in der Milch.

Ein Ferment, das ein natürlich vorkommendes Chromogen färbt, fand Phisalix[3]) in der Froschhaut.

Dieser Gruppe von Oxydasen schliessen sich auch die Wirkungen auf p-Phenylendiamin, die pflanzliche Laccase etc. an. Sie sind verwandt, aber nicht identisch mit den Guajac bläuenden Oxydasen, da die meisten dieser Enzyme auch Guajac bläuen, und andererseits Carnot (l. c.) bei seinen Enzymbefunden auch die Violettfärbung von p-Phenylendiamin nachweisen konnte. Indessen beobachtete er auch die Oxydation von Hydrochinon, die eine Function der Bertrand'schen Laccase (s. u.) sein soll.

Tyrosinase. Eine Oxydase, die specifisch auf Tyrosin einwirkt, hat man zuerst in Pflanzensäften gefunden; sie führt das Tyrosin in Homogentisinsäure über (s. u.).

Eine analoge Oxydase hat man nun auch mehrfach in thierischen Säften gefunden. Doch ist sie von der pflanzlichen verschieden, da diese bei der Immunisirung specifische Antifermente bildet, die auf die thierische Tyrosinase nicht wirken (Gessard[4])).

Zuerst beobachtete Biedermann[5]) eine Dunkelfärbung von Tyrosin durch den Darmsaft hungernder Mehlwürmer. Das Enzym wurde sowohl durch Alkalien wie durch Säuren sehr beeinträchtigt.

Die natürliche Schwarzfärbung der Hämolymphe von Lepidopteren an der Luft konnten v. Fürth und Schneider[6]) auf die Gegenwart einer Tyrosinase zurückführen.

Alkali hemmte ihre Wirkung schon in 0,2 proc. Sodalösung; Essigsäure bei 0,05 %. Am besten wirkt sie bei 0,05 proc. Sodalösung. Bei 30° tritt keine Verfärbung mehr auf.

Das Enzym färbt sowohl ein natürlich in der Hämolymphe vorkommendes Chromogen, wie auch Tyrosin; die Flüssigkeit giebt auch

---

1) Biedermann, Pflüg. Arch. 72. 156 (1898).

2) Carnot, Soc. Biol. 48. 552 (1896); s. a. Dupouy, Journ. Pharm. Chim. (6.) VIII. 551; Maly's Jb. 1899. 729.

3) Phisalix, Soc. Biol. 50. 793 (1898).

4) Gessard, Soc. Biol. 54. 1304 (1902).

5) Biedermann, Pflüg. Arch. 72. 105 (1898).

6) v. Fürth und Schneider, Hofm. Beitr. I. 229 (1901).

die Spitzer'sche Reaction mit Paraphenylendiamin und β-Naphthol, dagegen keine typische Guajacreaction.

Das Enzym liess sich durch Halbsättigung mit Ammonsulfat isoliren. Es färbt auch Brenzcatechin, Hydrochinon, Suprarenin und Oxyphenyläthylamin. Das aus Tyrosin entstehende Product ist fast doppelt so stickstoffreich (13,74 %) und steht den Melaninen nahe.

Ein analoges Enzym fanden sie auch in Flusskrebsen und im Tintenbeutel der Sepia officinalis, eben so Gessard[1]), Cotte[2]) auch in Schwämmen (Suberites domuncula).

Die Zerstörung von Fetten und auch von freier Palmitinsäure durch ein Gemisch von Blut und Leberextract ist von Weiss[3]) behauptet, von Blumenthal[4]) aber bestritten worden. Es soll dabei Zucker entstehen, was für die Anhänger der Anschauung, dass ein Theil des Diabeteszuckers aus Fetten entsteht, von grosser Bedeutung wäre. Das Verschwinden der Fette in der Blutbahn ist von Cohnstein und Michaelis[5]) genau untersucht worden (s. a. bei Lipase).

Peroxydasen, d. h. solche, die nur bei Gegenwart von Peroxyden, besonders H_2O_2 oxydiren, giebt es ebenfalls weit verbreitet, z. B. im Serum, das keine echte Oxydase enthält, in der Milch etc. (s. b. Bourquelot[6])). Man muss dabei bedenken, dass alte Guajactinctur häufig H_2O_2 enthält, dann also echte Oxydasen vortäuschen kann. Man muss daher stets frische Lösungen verwenden. Abelous[7]) fand indirecte Oxydasen in verschiedenen Geweben, Lépinois[8]) u. A. im Leberextract.

Im Eiter fand Linossier[9]) eine solche Oxydase, die Guajactinctur bläut. Auf die Thatsache, dass Eiter Guajactinctur bläut, hat zuerst Klebs[10]) hingewiesen.

Chloroform, Blausäure etc. störten die Fermentwirkung nicht; ebenso erwies sich das Chloroformwasserextract des Alkoholpräcipitates als wirksam.

Auch in der Milch sind vielfach solche Peroxydasen gefunden worden[11]).

1) Gessard, Soc. Biol. 54. 1304 (1902).
2) Cotte, Soc. Biol. 55. 137 (1903).
3) Weiss, Z. phys. Ch. 24. 542.
4) Blumenthal, Z. f. physik. u. diät. Therapie. 1898. 250.
5) Cohnstein und Michaelis, Pflüg. Arch. 65. 473; 69. 76; Zusammenfass. i. Medic. Woche. 1900. Nr. 15.
6) Bourquelot, Soc. Biol. 50. 402 (1898).
7) Abelous, Soc. Biol. 51. 328 (1899).
8) Lépinois, Soc. Biol. 51. 428 (1899).
9) Linossier, Soc. Biol. 50. 373 (1898).
10) Klebs dort citirt.
11) v. z. B. Gillet, Journ. d. phys. et pathol. IV. 439 (1902).

Ein Wort müssen wir noch den Nucleoproteïden Spitzer's[1]) widmen. Spitzer schreibt den Nucleoproteïden, also den specifischen Zellkernsubstanzen noch über das Leben hinausragende Bedeutung als Sauerstoffüberträger zu und will diese Kraft auf die eigenartige Bindung des Eisens in diesen Stoffen zurückführen. Ob er eine wirkliche Bindung des Sauerstoffes und nachherige Wiederabgabe, also ein Wechselspiel von Oxydation und Desoxydation, wie beim Blutfarbstoff, annehmen will oder mehr eine Fermentwirkung supponirt, steht dahin. In jedem Fall ist sein Befund gegenüber der sonstigen Unmöglichkeit, Fermente in reinem Zustande zu gewinnen, höchst merkwürdig und für die weitere Betrachtung der Fermente und der ihnen ähnlichen Processe von grosser theoretischer Bedeutung, um so mehr, als man auch andere Fermente (Pepsin, Fibrinferment) als Nucleoproteïde erkannt haben will. Was hier eigentlich vorliegt, ob hier vielleicht eine Art von Zwischenstufe zwischen echten fermentativen und anderen verwandten Processen zu Grunde liegt, lässt sich, vor der Hand wenigstens, nicht entscheiden. Ein grosses Interesse verdient dieser Befund auch in biologischer Hinsicht. Er gestattet Rückschlüsse auf die Function der Nucleoproteïde in der lebenden Zelle, resp. ihrem Kern. Man kann, darauf fussend, auch für den lebenden Kern eine grosse Rolle bei den Oxydationsprocessen der Zelle in Anspruch nehmen.

Freilich geht man wohl doch zu weit, wenn man nun den Kern von seinem erhabenen Piedestal, auf dem er, der allgemeinen Anschauung nach, als eigentliches Lebenscentrum thronte, herunterstösst und ihn zu einem einfachen Oxydationswerkzeug, quasi einer Kraftmaschine der Zelle degradirt, wie dies Jacques Loeb[2]) thun will.

Während man bisher aus der Vermehrungsunfähigkeit kernloser Protoplasmaklümpchen eben auf die eminente Wesentlichkeit des Kernes für die Fortpflanzung des Lebens schloss, glaubt Loeb diese Verkümmerung nur einem ungenügenden Sauerstoffumsatz in Folge des fehlenden Kernes zuschreiben zu dürfen. Er hat zur Unterstützung dieser Anschauung gezeigt, dass er kernlose, aber durch ihr Chlorophyll assimilirende, Sauerstoff producirende Algenstückchen lange (5—6 Wochen) am Leben erhalten konnte, während kernlose Infusorien schnell zu Grunde gingen. Er schliesst weiter daraus, dass die Entfernung zweier Kerne ein gewisses Maximum nicht überschreiten darf, ohne dass das dazwischenliegende Protoplasma „erstickt". Es ist hier nicht der Ort, diese Frage weiter auszuspinnen. Ich wollte

1) Spitzer, Pflüg. Arch. 67. 615.
2) J. Loeb, Arch. f. Entwicklungsmech. VIII. 689 (1899).

nur die Bedeutung des Spitzer'schen Befundes in das geeignete Licht rücken.

Das „harnstoffbildende Ferment". Bisher sind alle Versuche, ein Ferment zu finden, das die im Thierkörper vor sich gehende Synthese des Harnstoffs aus Ammoniumcarbonat vollzieht, vergeblich gewesen (Spitzer[1])). Es ist auch fraglich, ob diese Synthese fermentativ möglich ist, ob sie ein katalytisch zu beschleunigender Process ist.

Indessen scheint es doch ein harnstoffbildendes Ferment zu geben, wenn auch in ganz anderem Sinne. So glaubt z. B. Richet[2]) aus der Leber ein durch Alkohol fällbares Enzym gewonnen zu haben, das aus höheren Molecularcomplexen Harnstoff abspaltet. Auch Gottlieb[3]) fand eine Vermehrung des Harnstoffgehalts beim aseptischen Digeriren von Leberextract. Dies ist theoretisch durchaus möglich, besonders da wir wissen, dass das Arginin, ein tryptisches Abbauproduct der Proteïde, durch einfache Hydrolyse Harnstoff abspaltet. Arginin als normaler Organbestandtheil ist von Gulewitsch[4]) in der Milz nachgewiesen worden. Auch ist ja Harnstoff als hydrolytisches Spaltproduct der Eiweisskörper längst bekannt. Es wäre also leicht möglich, dass neben der rein vitalen Synthese des Harnstoffs noch eine andere Quelle desselben bestände, dass er auch durch Spaltungsprocesse entsteht, die durch Enzyme veranlasst werden. Dass Harnstoff durch oxydative Spaltung, besonders von Aminosäuren und Oxysäuren bei Gegenwart von Ammoniak entstehen kann, hat Hofmeister[5]) nachgewiesen.

Dann haben Chassevant und Richet[6]) und Schwarz[7]) bestätigt, dass in aseptisch gehaltenen Leberextracten der Harnstoff sich vermehrt, dass auf diesen Vorgang Ammoniaksalze und Eiweisstoffe, nach Schwarz[7]) auch Oxaminsäure, ohne Einfluss sind, dass aber der Zusatz von harnsaurem Natrium, nach Loewi[8]) auch von Glycocoll und Leucin, unter Abnahme der Harnsäure den Harnstoffgehalt beträchtlich ansteigen macht. Es scheint sich also ein Abbau der Harnsäure zu Harnstoff zu vollziehen. Jedoch ist nach Loewi[8]) dieser Stoff nicht Harnstoff, sondern ein nicht näher be-

1) Spitzer, Pflüg. Arch. 71. 596 (1898).
2) Richet, C. R. 118. 1127; Soc. Biol. 46. 525 (1894).
3) Gottlieb, Münch. med. Woch. 1895. 547.
4) Gulewitsch und Jochelsohn, Z. phys. Ch. 30. 533 (1900).
5) Hofmeister, Arch. exper. Path. 37. 426 (1896).
6) Chassevant und Richet, Soc. Biol. 49. 743 (1897).
7) Schwarz, Arch. exp. Path. 41. 60 (1898).
8) Loewi, Z. phys. Ch. 25. 511 (1898).

stimmter, anderer stickstoffhaltiger Körper. Jacoby[1]), der das Ferment in Extracten aus Hundeleber fand, scheint vielmehr an eine Bildung von Allantoin aus Harnsäure zu glauben, das ja als Stoffwechselproduct der Harnsäure vorkommt und leicht mit Harnstoff verwechselt werden kann. Die Harnsäurezerstörung in der Leber wurde auch von Ascoli[2]) constatirt.

Loewi erhielt ebenfalls durch Fällen mit Alkohol das Ferment in trockenem Zustande. Die Existenz eines derartigen Ferments ist also sichergestellt; in Frage steht dagegen noch, was es angreift und welches Product es liefert.

Das glycolytische Ferment. Im engsten Zusammenhang mit der Frage der Oxydasen steht die nach dem sog. „glycolytischen" Fermente des Blutes und der Gewebe.

Schon Cl. Bernard[3]) hatte beobachtet, dass der Zucker des Blutes beim Stehenlassen ziemlich schnell verschwindet, diesem Befund aber weiter keine besondere Beachtung geschenkt. Erst Lépine[4]) hat dieser Erscheinung wieder grössere Aufmerksamkeit zugewendet, besonders in Bezug auf die Aetiologie des Diabetes mellitus, der Zuckerharnruhr. Er nahm an, dass die Ursache der Ueberlastung des Blutes mit Traubenzucker bedingt sei durch einen ungenügenden Verbrauch des Zuckers, und dieser wieder seine Ursache habe in einer Verminderung der glycolytischen Kraft des Blutes, die er auf ein Ferment zurückführt. Die glycolytische Wirkung ist gebunden an die Leukocyten, während das Serum unwirksam ist. Der Zerstörung unterliegen nach Portier[5]) Glucose, Mannose, Galactose, Fructose, Maltose und Dioxyaceton, nicht aber Rohrzucker, Milchzucker und Pentosen. Filtration durch Porzellan hebt die glycolytische Function auf.

Die Glycolyse ist keine Function der Zellthätigkeit, sondern es lässt sich das Ferment aus den abcentrifugirten Blutkörperchen durch Kochsalzlösung extrahiren.

Das coagulirte Fibrin enthält das Ferment, aber nicht an das Fibrin gebunden, sondern an die mitgerissenen Leukocyten. Beim Auswaschen des Coagulums geht es in das Wasser über.

Lépine nimmt weiterhin an, dass dieses Ferment auch intra vitam aus den Leukocyten sich abspaltet. Seine Bildung ist eine Function der inneren Secretion des Pankreas. Wenn man das Pankreas reizt,

1) Jacoby, Virch. Arch. 157. 235 (1899).
2) Ascoli, Pflüg. Arch. 72. 340 (1898).
3) Cl. Bernard, Vorlesg. üb. Diabetes, übers. v. Posner. 1878. S. 195.
4) Lépine, Ausführliches Autoreferat in der Wiener med. Presse. 1892. Nr. 26ff.
5) Portier, Soc. Biol. 55. 191 (1903).

wird die Glycolyse vermehrt, z. B. durch Abbinden des Ductus Wirsungianus oder Durchschneiden der Nerven; bei Ausschaltung des Pankreas soll es verschwinden. Die Pankreasvene enthält mehr Ferment als die Milzvene. Indessen fand Pàl[1]) den Zuckergehalt in der Pankreasvene gegenüber der Arterie nicht vermindert.

Auf den Fortfall der normalen Function des Pankreas, resp. des glycolytischen Ferments will nun Lépine eine der Ursachen des Diabetes mellitus zurückführen, da eben bei dieser Krankheit parallel mit der Affection des Pankreas eine Verminderung der glycolytischen Kraft des Blutes einhergeht. Dies gilt indessen nicht für den Phloridzindiabetes.

Ausser der zahlenmässigen Verminderung der Glycolyse im diabetischen Blut führt Lépine für seine Anschauung besonders einen Versuch ins Feld, bei dem er bei einem durch Pankreasexstirpation diabetisch gemachten Hund die Zuckerausscheidung im Harn dadurch herabmindern konnte, dass er ihm normalen, also fermenthaltigen Chylus in die Blutbahn infundirte.

Während nun die Existenz der glycolytischen Kraft des Blutes allgemein bestätigt wurde, gehen über ihre Natur und Bedeutung die Ansichten weit auseinander.

Seegen[2]) und Arthus[3]) halten die Glycolyse für eine postmortale Erscheinung. Nach Arthus soll sich das Ferment aus den Leukocyten, oder wie er sich vorsichtiger ausdrückt, „d'élements figurés autres que les globules rouges" entstehen. Das wird durch eine Beobachtung von Hahn[4]) unterstützt, der bei Hyperleukocytose eine Vermehrung des Ferments wahrscheinlich machen konnte.

Arthus und mit ihm Colenbrander[5]) bringen die glycolytische Function in enge Beziehungen zu der Blutgerinnung, resp. zu dem Fibrinferment. Dieselben Substanzen, die durch Conservirung der Leukocyten die Entstehung von Fibrinferment hindern, nämlich Fluornatrium und Blutegelextract (Colenbrander), hemmen auch die glycolytische Function. Die Beeinflussung durch Blutegelextract wird von Rywosch[6]) bestätigt. Im Blutplasma soll kein glycolytisches Ferment vorhanden sein (Doyon und Morel[7])), auch nicht im lackfarbenen Blut.

Wenn auch Lépine (l. c.) versucht hat, die Beziehungen zur Blutgerinnung zu bestreiten und die glycolytische Function als eigenen

1) Pàl, Wiener klin. Woch. **1891**. 4.
2) Seegen, Centralbl. f. Phys. V. Nr. 25. 26 (1891); Wiener klin. Woch. **1892**. 207.
3) Arthus, Archives d. phys. (5.) III. 425 (1891); (5.) IV. 337 (1892).
4) Hahn, Berl. klin. Woch. **1897**. 499.
5) Colenbrander Maly's Jb. 1892. 137.
6) Rywosch, Centralbl. f. Phys. XI. 495 (1897).
7) Doyon und Morel, Soc. Biol. **55**. 215 (1903).

Process aufrecht zu erhalten, so ist doch jedenfalls die Bedeutung seiner Befunde für die Pathogenese des Diabetes mellitus sehr geschmälert worden dadurch, dass andere Untersucher (Minkowski[1]) Kraus[2]) Spitzer[3])) die Thatsache, dass beim Diabetes das glycolytische Ferment vermindert sei, nicht bestätigen konnten. Kraus fand das glycolytische Ferment zwar im Blut; er wies sogar nach, dass dabei unter Sauerstoffabsorption Kohlensäure entsteht, indessen ist die Glycolyse beim normalen Blut nicht grösser als beim diabetischen; sie ist nur wegen der geringen Zuckermenge relativ grösser.

Spitzer bestätigte, dass die glycolytische Kraft des diabetischen Blutes der des normalen gleich sei, und wies ferner nach, dass diese oxydative Kraft nicht auf die Zellen des Blutes beschränkt sei, sondern dass sie allen Zellen gemeinsam ist, wodurch also das glycolytische Verhalten des Blutes nicht mehr als eine specifische, sondern als eine Wirkung der oben besprochenen Oxydasen erscheint. Auch Salkowski[4]) schliesst sich dieser Ansicht an.

Lépine[5]) hat dann in neueren Arbeiten behauptet, dass das glycolytische Ferment mit dem oxydirenden nicht identisch sei, und hat angegeben, dass man das glycolytische Ferment künstlich aus Malzdiastase durch Behandlung mit verdünnter (0,2 procentiger) Schwefelsäure erhalten könne. Diesen Angaben wird indessen von Padéri[6]) und Nasse und Framm[7]) widersprochen.

Indessen hält wieder Jacoby[8]) an der Verschiedenheit beider Fermente fest. Er fand, dass das glycolytische Ferment schon bei 58° zerstört wird, während die Salicylase selbst bei 75° noch nicht völlig unwirksam wird.

Es verhält sich ganz wie die Enzyme stets: wird durch Kochen zerstört, bindet sich an frisches Fibrin etc. Sein Optimum liegt nach Lépine bei ca. 45°, bei 56° wird es bald zerstört[9]). Seegen fand, dass seine Wirkung durch Luftzufuhr begünstigt wird. Blutserum schwächt seine Wirkung, besonders auch fremdes Blut[9]). Seegen

---

1) Minkowski, Berl. klin. Woch. 1892. 5; Arch. exp. Path. 31. 175 (1893) (ältere Litter.).
2) Kraus, Ztsch. f. klin. Med. 21. 315.
3) Spitzer, Berl. klin. Woch. 1894. 949; Pflüg. Arch. 60. 303.
4) Salkowski, Virch. Arch. 147.
5) Lépine, u. A. C. R. 120. 139 (1895).
6) Padéri, Soc. med. chir. de Pavia. 1895; Maly's Jahrb. 1896. S. 121.
7) Nasse und Framm, Pflüg. Arch. 63. 203 (1896).
8) Jacoby, Virch. Arch. 157. 235 (1899).
9) Hahn, Berl. klin. Woch. 1897. 499.

konnte weder die Bildung von Kohlensäure noch von Milchsäure nachweisen; Kraus fand Absorption von Sauerstoff und Bildung von Kohlensäure.

Dass die glycolytische Kraft im Allgemeinen beim Diabetes vermindert ist, nehmen auch Achard und Weil[1]) an. Sie constatirten, dass bei Diabetikern die normale Function des Organismus, subcutan eingeführte Glucose zu verbrennen, geschwächt ist, so dass der Zucker schnell im Harn erscheint; auch bei einigen Nichtdiabetikern, fettleibigen Alkoholikern, konnte man auf diese Weise Glycosurie hervorrufen, so dass Achard und Weil geneigt sind, von einer forme fruste des Diabetes zu sprechen. Dagegen gehen Galactose und Fructose nur in Spuren in den Harn über, wenn man sie in solchen Fällen subcutan injicirt.

Meine eigenen Versuche haben nicht viel Positives ergeben. Ich habe mich bestrebt, der Frage näher zu treten, was denn bei der Glycolyse im Blut aus dem Zucker wird. Wenn man die Spaltung als fermentative ansieht, so liegt es nahe, entweder eine Bildung von Alkohol oder von Milchsäure zu vermuthen. Beide kommen ja unter bestimmten Bedingungen im Organismus vor.

Alkohol konnte ich aus künstlich mit Zucker versetztem Blut, dass 48 Stunden im Brutschrank unter Vermeidung der Fäulniss gestanden hatte, in irgendwie nennenswerthen Mengen jedenfalls nicht auffinden; Spuren eines jodoformgebenden Körpers, der die Denigès'sche Acetonreaction nicht gab, erhielt ich allerdings.

Ebenso wenig konnte ich eine Mehrbildung von Milchsäure mit Sicherheit constatiren (s. b. Milchsäuregährung).

Nahezu dieselbe Fragestellung wie bei meinen Versuchen hat Herzog[2]) zu seinen mühevollen Experimenten geführt. Trotz aller aufgewendeten Sorgfalt ist er aber auch nicht darüber hinausgekommen, dass man bei Destillation von Blut und Pankreaspresssäften mit Zucker sehr geringe Mengen eines jodoformgebenden Körpers, der nicht Aceton ist, erhält. Ob dies aber Aethylalkohol ist, war bisher nicht zu ent-entscheiden. Nun wissen wir zwar jetzt, dass die thierischen Organe sowohl milchsäurebildende, wie alkoholisirende Enzyme enthalten (Stoklasa, vgl. dort); ob ihnen indessen auch das Verschwinden des Zuckers im Blut wirklich zuzuschreiben ist, ist damit noch nicht über jeden Zweifel erhaben.

Ausser im Blut kommt das glycolytische Ferment auch in den Organen vor. Auch hier zeigen sich Verschiedenheiten von dem

1) Achard und Weil, Soc. Biolog. 50. 139. 986 (1898).
2) Herzog, Hofmeister's Beitr. II. 102 (1902).

oxydativen Ferment. So fand Jacoby (l. c.) in der Leber eines Diabetikers zwar die glycolytische Kraft aufgehoben, die Oxydase aber vorhanden. Blumenthal[1]) fand, dass das Pankreas bei sehr geringer oxydativer Kraft stark glycolytisch wirkt, während die Milz sich gerade umgekehrt verhält. Sympson[2]) und Ssobolew[3]) fanden in Pankreasextracten glycolytische Kraft.

Blumenthal stellte dann nach einem Verfahren, das dem der Buchner'schen Zymasegewinnung (s. o.) ähnlich ist, bei 75—100 Atmosphären Druck Presssäfte aus Leber etc., besonders aber Pankreas dar, die glycolytisch wirkten und auch Kohlensäure bilden sollen.

Dass Simacek im Pankreaspresssaft Zymase fand, haben wir oben erwähnt (S. 321).

Versuche, mit solchen glycolytischen Presssäften heilend auf den Diabetes einzuwirken, sind bis jetzt ebenso ohne greifbares Resultat geblieben, wie die Verfütterung von Pankreas etc. Seine Resultate wurden von Umber[4]) bestritten. Er fand die glycolytische Kraft des Pankreas und des Pankreasvenenblutes nicht grösser als die im Blut allgemein vorhandene.

In menschlichem Pankreas (aus Leichenmaterial) konnte Pierallini[5]) eine geringere glycolytische Kraft finden als Blumenthal in frischen Organen.

Das Vorkommen von glycolytischem Ferment im Harn ist sehr zweifelhaft.

Ich habe bisher die Supposition der Existenz eines glycolytischen Ferments als Thatsache angenommen, obwohl auch diese Grundfrage nicht entschieden ist. Lépine[6]) selbst ist in seiner letzten Arbeit darüber schwankend geworden, und besonders von Bendix und Bickel[7]) ist die Existenz eines specifischen Enzyms geleugnet worden, da nach ihrer Annahme die Alkalinität des Blutserums ausreicht, um Zucker zum Verschwinden zu bringen, wie Versuche mit reinen Sodalösungen ergaben. Sie erinnern an die wichtigen Befunde von Lobry de Bruyn, dass Glucose durch schwache Alkalien z. T. in Fructose und Mannose übergeführt wird. So ist denn die ganze Frage noch sehr dunkel.

---

1) Blumenthal, Z. f. physikal. u. diätet. Ther. 1898. 250.
2) Sympson, Brit. Med. Journ. 1893. I. 113.
3) Ssobolew, Centralbl. f. Path. 1900. 202.
4) Umber, Z. klin. Med. 39. 12 (1900).
5) Pierallini, Z. klin. Med. 39. 26. (1900).
6) Lépine, Deutsch. med. Woch. 1902. Nr. 4.
7) Bendix u. Bickel, Deutsch. med. Woch. 1902. Nr. 1. 10; Z. f. klin. Med. 48. Heft 1/2 (1903).

Jecorin. Da stets der Zuckergehalt des Blutes an der Hand der Reductionskraft gemessen wird, so leiden alle Zuckerbestimmungen im Blut [illegible] dass der Zucker im Blut zum grössten Theil nicht frei, sondern [illegible] gebunden vorkommt und daraus erst bei der Spaltung frei wird, während auch diese Verbindung an sich etwas reducirt.

Drechsel[1] fand diese Verbindung, die in Aether löslich ist, zuerst [illegible] Leber und nannte sie Jecorin. Er hielt sie für eine Verbindung [illegible] Lecithin mit einem Zucker. Dies wurde dann von Manasse[2] bestätigt und der Zucker als Glucose erkannt. Im Blut fanden das Jecorin [illegible] und Henriques[4]. Bing[5] gelang dann der Nachweis, dass [illegible] dem Blut zugesetzter Zucker sich noch zu Jecorin verbindet, und dass auch aus reinem Lecithin und Traubenzucker ein dem Jecorin sehr ähnlicher Stoff entsteht.

Die Oxydasen der Pflanzen.

Dass die Pflanzenzellen ähnliche katalytisch wirkende Stoffe enthalten wie die thierischen, wurde schon von Schönbein[6] erkannt an ihrer Wirkung auf Wasserstoffsuperoxyd und an den spontanen Farbenveränderungen, z. B. von Pilzen. Die spontane Oxydation natürlicher Pflanzenchromogene wurde dann von Pfeffer[7] beschrieben. [illegible][8] fand, dass Pyrogallol in Berührung mit Gummi arabicum [illegible] oxydirt wird, van den Broek[9], dass viele Pflanzen[illegible] Guajactinctur bläuen, ebenso Schaer[10], bei der Phytolacca [illegible] dem Malzaufguss etc. Pohl[11] konnte mit pflanzlichen Extracten, [illegible] Tannennadeln, die Indophenolreaction erhalten, aber nicht [illegible] von Formaldehyd.

[illegible] berichtete Bertrand[12] in zahlreichen Arbeiten über ein [illegible] aus dem tonkinesischen Lackbaum, Rhus vernicifera, [illegible] oxydatives Ferment, die Laccase, die vor ihm schon von

[1] [illegible] pr. Ch. N. F. 33. 425 (1886).
[2] [illegible] phys. Ch. XX. 478 (1895).
[3] [illegible] Centralbl. f. Phys. VI. 369 (1892).
[4] [illegible] Z. phys. Ch. 23. 244 (1897).
[5] [illegible] f. Phys. XII. 210 (1898).
[6] [illegible] Z. f. Biol. 1868. Einen Ueberblick über die gesammten [illegible] diesen Gebieten giebt Schaer, Z. f. Biol. 37. 320 [illegible]
[7] [illegible] bot. Ges. III. 82 (1889).
[8] [illegible] 163. 160.
[9] [illegible] Jahresb. d. Ch. v. Liebig u. Kopp. 1849 und 50. 455.
[10] [illegible] 1894. 749.
[11] [illegible] 38. 65.
[12] [illegible] 120. 266; 121. 166. 783; 122. 1132; Arch.
[illegible]

Yoshida[1]) kurz beschrieben war, und die Oxydation des gelben Rindensaftes zu dem schönen tiefschwarzen Lack bewirkt. Bertrand fand sie dann weiterhin in vielen Phanerogamen und Pilzen, sowie im Gummi arabicum. Die Laccase besteht zum grössten Theil aus Kohlehydraten, die bei der Spaltung Galactose und Arabinose liefern, und einer manganreichen Asche. Sie soll stickstofffrei sein. Sie ist besonders dadurch ausgezeichnet, dass sie namentlich die mehrwerthigen Phenole, wie Pyrogallol, Hydrochinon etc. oxydirt, die einfachen dagegen unbeeinflusst lässt. Ebenso bleiben die Meta-Phenole, wie Phloroglucin und Metamidophenol unverändert, während die Para-Phenole, besonders Hydrochinon, leicht angegriffen werden. Seine Beobachtungen wurden von anderen französischen Untersuchern bestätigt. Slowtzoff (l. c.) stellte aus Kohl und Kartoffeln Laccase her. Er hält sie für einen Eiweisskörper. Sie ist gegen schwache Säuren, Pepsin und Trypsin beständig. Tolomei[2]) fand ein laccaseähnliches Ferment im Wein, dem er eine Rolle bei der Bildung des Bouquets zuschreibt (s. a. unter „Oenoxydase").

Bourquelot[3]) fand, dass bei successiver Einwirkung von Emulsin und einer pflanzlichen Oxydase aut Salicin aus dem primär entstehenden Salicylalkohol Salicylaldehyd entsteht, und nimmt an, dass ein derartiger Process sich wohl auch in den Pflanzen selbst, z. B. in der Spiraea ulmaria abspielen möge, in der sich Salicylaldehyd vorfindet.

Eine Antilaccase konnte Gessard[4]) dadurch erzielen, dass er Kaninchen gegen Laccase immunisirte. Das Serum hemmte stärker als normales; auch Antityrosinase war ohne Einfluss auf die Laccasewirkung.

Tyrosinase. Eine andere Oxydase, die eine specifische Wirkung auf Tyrosin ausübt, die Tyrosinase, hat Bertrand[5]) im Rübensaft, in der Dahlia und in einigen Pilzen, besonders Russula aufgefunden. Sie soll die spontane Dunkelfärbung des Rübensaftes verschulden, indem sie das Tyrosin in Homogentisinsäure überführt (Gonnermann[6])). Sie ist nach Bertrand verschieden von der Laccase und kommt mit dieser gleichzeitig vor. Das Ferment ist sehr unbeständig, wird durch Erwärmen auf 55° und durch Alkohol zerstört.

Harlay[7]) benutzt die Tyrosinase von Russula delica zum Nachweis des Tyrosins in Verdauungsgemischen und glaubt dadurch peptische und

---

1) Yoshida, Journ. Chem. Soc. **43**. 472 (1883).
2) Tolomei, Maly's Jb. **1896**. 913.
3) Bourquelot, Soc. Biol. **48**. 516 (1896).
4) Gessard, Soc. Biol. 55. 227 (1903).
5) Bertrand, C. R. **122**. 1215; **123**. 463; Bull. Soc. Chim. **1896**. 793.
6) Gonnermann, Pflüg. Arch. **82**. 289 (1900). S.-A.
7) Harlay, De l'application de la tyrosinase etc. Thèse de Paris 1900.

tryptische Verdauungen von einander unterscheiden zu können. So fand er auch bei der Papaïnverdauung die typische Braunfärbung des Tyrosins.

Laccase wirkt nicht auf Tyrosin. Bei seinen zahlreichen Untersuchungen über die Enzyme der Pilze hat dann Bourquelot[1]) ausser proteolytischen auch oxydirende Fermente beschrieben, die alle Phenole[2]) oxydiren. Auch die Tyrosinase fand er[3]), sowie auch Oxydasen in Gummiarten[4]). Rey-Pailhade[5]) fand dann in Pflanzentheilen auch jenes für die thierischen Organe charakteristische Ferment, das Indophenolreaction giebt, was Laccase nicht thut, das sich indessen durch Löslichkeit im Wasser und verdünntem Spiritus von dem thierischen unterscheidet.

Eine Antityrosinase hat Gessard[6]) durch Injection von Tyrosinase gewinnen können. Sie hindert nicht die Wirkung thierischer Tyrosinase, so dass die beiden verschieden zu sein scheinen (Gessard[7])).

Cornu[8]) hat in fast allen Organen des Weinstockes Oxydasen gefunden, die durch Alkohol absolutus zerstört werden.

Das Leuchten von Thieren und Pflanzen wird von Dubois[9]) einem oxydirenden Ferment, dem er den poetischen Namen Luciferase gegeben hat, zugeschrieben.

Auch die Fermentation der Tabaksblätter, die man bisher für eine Bacterienwirkung hielt, soll nach Loew[10]) auf einer Oxydase beruhen.

Auch Woods[11]) fand im Tabakssaft eine Oxydase, die sich sogar regenerirt, wenn der Saft einmal aufgekocht wird. Er nimmt daraufhin die Existenz eines hitzebeständigen Zymogens an.

Ein weiteres oxydirendes Ferment soll das „Brechen" oder „Umschlagen" des Weines, eine spontan eintretende Entfärbung desselben, hervorrufen. Es soll der Laccase ähnlich sein und ist „Oenoxydase"

1) Bourquelot, Journ. d. pharm. et chim. [6.] IV. 145. 241. 440; V. 465; VI. 426; Soc. Biol. 48. 811. 825. 893. 896 (1896); Bourquelot und Bertrand, Bull. soc. myc. XII. 18. 27. S.-A.

2) Bourquelot, C. R. 123. 315. 423.

3) Derselbe, Bull. soc. mycol. XIII. 65. S.-A.

4) Derselbe, Soc. Biol. 49. 25 (1897).

5) Rey-Pailhade, Soc. Biol. 48. 479 (1896).

6) Gessard, Ann. Past. XV. 593 (1901).

7) Derselbe, Soc. Biol. 54. 1304 (1902).

8) Cornu, Journ. pharm. chim. [6.] X. 342 (1899).

9) Dubois, C. R. 123. 653 (1896).

10) Loew, C. f. Bact. (2.) V. 730 (1899); VI. 108, 673 (1900); s. a. Behrens, C. f. Bact. (2.) VII. 1.

11) Woods, cit. n. Loew, l. c.

getauft worden. Es ist aus dem Wein durch Alkoholfällung, an einen gummiartigen Körper gebunden, darzustellen. Nach Cazeneuve[1]) soll es Alkohole und Ester unter Kohlendioxydbildung oxydiren. Es soll auch bei dem Altern der Weine eine Rolle spielen. Es wird durch Pasteurisiren des Weins bei 60° vernichtet, desgleichen durch schweflige Säure; darauf soll zum Theil die wohlthätige Wirkung des Schwefelns der Fässer beruhen (Gouirand[2]), Martinaud[3]), Laborde[4]), Cazeneuve[1]) Bouffard[5]) u. A.). Laborde bringt ihre Wirksamkeit mit dem Pilz der Edelfäule, Botrytis cinerea, zusammen, was indessen Cazeneuve bestreitet. Aspergillus etc. liefern keine Oenoxydase. Brissemoret und Jeanne[6]) fanden eine Oxydase in der Digitalis. Lindet[7]) will das Dunkelfärben des Apfelsaftes auf eine Oxydase zurückführen, die das Tannin oxydirt.

Eine umfassende Studie über Oxydasen und Peroxydasen der Pflanzen ist von Aso[8]) angestellt worden. Er fand eine ganze Reihe von verschiedenen Reactionen, die er auf verschiedene Enzyme zurückführt. Die Oxydasen sind durch Alkohol fällbar, die Peroxydasen nicht. Existenz von Zymogenen ist wahrscheinlich.

In manchen Fällen, wo die Oxydasen zu fehlen scheinen, sind sie durch reducirende Substanzen verdeckt (Hunger[9]), Aso, l. c.). Pozzi-Escot[10]) nimmt sogar reducirende Fermente an, die diese Verhüllung bewirken. Durch geeignete Entfernung dieser störenden Substanzen kann man unter Umständen die Oxydasewirkungen aufdecken.

Man hat bei dieser Massenproduction von Oxydasen etc., mit denen wir von französischen Biochemikern seit einigen Jahren beschenkt werden, das unerquickliche Gefühl, als ob ein grosser Theil dieser „Enzyme" einer ernsten Prüfung nicht Stand halten würde, zumal da auch nicht ein einziges in angenähert reinem Zustande dargestellt ist. Der einzige deutsche Chemiker, der sich m. W. mit der „Laccase" näher beschäftigt hat, ist sehr geneigt, ihre „Fermentwir-

1) Cazeneuve, C. R. 124. 406. 781 (1897).
2) Gouirand, G. R. 120. 887 (1895).
3) Martinaud, C. R. 120. 1426.
4) Laborde, C. R. 123. 1074 (1896).
5) Bouffard, C. R. 124. 706.
6) Brissemoret und Jeanne, Journ. Pharm. Chim. (6.) VIII. 481. Chem. Centralbl. 1899. I. 133.
7) Lindet, C. R. 120. 370 (1895).
8) Aso, Bull. Coll. Agric. Tokio V. 207; Chem. Centrbl. 1902. II. 1418.
9) Hunger Ber. bot. Ges. XIX. 374 (1901).
10) Pozzi-Escot, C. R. 134. 479.

kung" auf die längst bekannte katalytische Wirkung der reichlich in in ihr vorhandenen Mangansalze zurückzuführen (Ruff[1])).

Diese Erkenntniss scheint sich auch bei den Franzosen allmählich Bahn zu brechen. Wenigstens hat Bertrand[2]) die katalytische Wirkung der Mangansalze in der Laccase einer genaueren Untersuchung gewürdigt und schreibt ihnen grosse Bedeutung zu. Freilich lässt er die specifische Wirksamkeit der Laccase noch nicht fallen, sondern glaubt nur den Mangansalzen eine unterstützende Kraft vindiciren zu dürfen und bezeichnet sie deshalb als Co-Fermente. Die Laccase aus Luzernen enthält sehr wenig Mangan, wirkt aber auch sehr schwach. Er nimmt an, dass Manganoxydul als Sauerstoffüberträger wirkt indem es sich abwechselnd zu MnO_2 oxydirt und seinen Sauerstoff wieder abgiebt. Das Ferment selbst soll eine salzähnliche Verbindung des Manganoxyduls mit einem Proteïnkern sein und das erstere der Träger der Action. Er giebt also ähnlichen Speculationen Raum, wie Spitzer bei seinen Nucleoproteïden (s. S. 357).

Inwieweit man nach Bach und Chodat's neuer Peroxydtheorie nun noch ihren Oxygenasen Fermentnatur zuschreiben darf, ist zur Zeit noch nicht zu entscheiden. Jedenfalls spielt auch für sie der Mangangehalt die ausschlaggebende Rolle.

Dass übrigens das Mangan auch durch Eisen ersetzt sein kann, zeigen die Befunde von Sarthou[3]), der aus Schinus molle eine manganfreie, eisenhaltige Schinoxydase dargestellt hat, die also noch mehr Aehnlichkeit mit den Spitzer'schen Nucleoproteïden hat.

Wie dem auch sein mag, jedenfalls sind ausser der Tyrosinase und Laccase die „Fermente", die die Guajacbläuung hervorrufen, noch die am ehesten sichergestellten. Sie finden sich, wie oben kurz erwähnt, in sehr vielen Pflanzen und Pflanzentheilen. Ihre Wirksamkeit ist theils die der „directen" Oxydasen, theils bläuen sie die Guajaclösung nur durch Vermittlung von Wasserstoffsuperoxyd, sind also Peroxydasen, die wohl zuerst von Pfeffer[4]) genauer untersucht worden sind.

Raciborski[5]) hat diese Blaufärbung mit Wasserstoffsuperoxyd und Guajac in sehr vielen Pflanzen, speciell im Leptom aufgefunden, und führt sie auf einen besonderen Stoff, das Leptomin, zurück, der aber nichts anderes als eine Peroxydase zu sein scheint.

1) Ruff, Privatmittheilung.
2) Bertrand, C. R. 124. 1032. 1355 (1897), s. d. a. Denigès, C. R. 130. 32 (1900).
3) Sarthou, Journ. Pharm. Chim. (6.) XI. 482; XII. 104; XIII. 464.
4) Pfeffer, Ber. d. d. botan. Ges. III. 82 (1889).
5) Raciborski, Ber. d. d. botan. Ges. XVI. 119 (1898).

Grüss[1]) hat dann die ganze Frage einer genauen Untersuchung unterzogen. Er fand die „indirecten" Oxydasen ebenfalls im Phloëm, bei ruhenden Hölzern ausser im Leptom auch im allerjüngsten Holz, dagegen nicht im Mark, im Xylem und in der Rinde. Nach der Winterruhe beginnt auch die Markkrone die Reaction zu zeigen.

Directe Oxydasen fand er dagegen besonders in der Wand der Gefässe wandernd.

Ich kann hier natürlich nicht auf alle anatomischen Einzelheiten der Grüss'schen Arbeit eingehen, ich muss jedoch noch der sehr weitgehenden theoretischen Consequenzen gedenken, die er aus seinen Befunden zieht.

Er stellt nämlich die Ansicht auf, dass diese Oxydationsreactionen in sehr enger Beziehung zur Diastase stehen. Obwohl er den Nachweis von Jacobson, dass man der Diastase die katalytische Wirkung nehmen kann (s. S. 44), anführt, glaubt er doch auf Grund eigener Versuche annehmen zu dürfen, dass es eine wesentliche Eigenschaft der Diastase selbst ist, diese katalytischen Wirkungen auszuüben. In diesem Sinne hält er den Nachweis von gewissen katalytischen Reactionen für sehr eng verbunden, vielleicht identisch mit dem von Diastase, speciell der Translocationsdiastase von Brown und Morris (s. S. 220). Er kommt dadurch zu einer Dreitheilung der oxydativen Fermente der Pflanzen:

1) die α-Oxydasen sind directe Oxydasen: sie finden sich an verschiedenen Stellen der Pflanzen, sind durch Glycerin ausziehbar, werden durch Alkohol zerstört.

2) die β-Oxydasen sind nur bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd wirksam, gegen Alkohol beständig. Hierher gehört das Leptomin Raciborski's. Sie entsprechen also den indirecten Oxydasen.

3) die γ-Oxydasen. Sie lassen sich besonders darstellen, wenn man z. B. eine Kartoffel durchbohrt und die Wunde heilen lässt, dann finden sie sich nur in den Peridermzellen dieser Wunde. Sie wirken stark hydrolytisch, schwach katalytisch. Und hierher soll nach Grüss auch die Diastase, speciell die Translocationsdiastase gehören, jedoch auch die Secretionsdiastase und die Cytase, dagegen fehlen oxydative Eigenschaften der Diastase von Penicillium.

Man kann sich schwer zu dieser Vorstellung entschliessen, obwohl es besonders für einen Nichtbotaniker kaum möglich ist, sie experimentell zu widerlegen. Aber wir können kaum anders, als uns vorzustellen, dass zwar möglicherweise die Diastase unter gewissen Bedingungen ständig von solchen katalytischen Stoffen begleitet wird, so dass man diese Reaction mit Vortheil zur Aufsuchung des Ferments in pflanzlichen Organen anwenden kann; aber an eine wirkliche Identität der Diastase mit solchen Stoffen zu glauben, dazu liegt doch noch keine sicher begründete Veranlassung vor. Im übrigen ist der Auffassung von Grüss von Chodat und Bach (l. c.) energisch widersprochen worden.

---

1) Grüss, Festschr. f. Schwendener 1899. S. 184. (Berlin).

Reducirende Enzyme. Als Gegenstück zu den „Oxydasen" sind von französischen Autoren auch reducirende Fermente angenommen worden.

Ein solches Enzym ist das Philothion, das „hydrogenisirende", schwefelwasserstoffbildende Ferment Rey-Pailhade's[1]); ferner das reducirende Ferment, das im Thierkörper wirksam sein soll (Abelous und Gérard[2]) etc.[3])

Ob diese Vorgänge irgend etwas mit Enzymwirkungen zu thun haben, erscheint mir vorläufig noch sehr zweifelhaft.

1) Rey-Pailhade in verschiedenen Arbeiten Soc. Biol. von Bd. **46** an.

2) Abelous und Gérard, C. R. **129** 164 (1899).

3) s. a. *Pozzi-Escot, Oxydases et réductases. Paris 1902 und C. R. 134. 81.

Fünfundzwanzigstes Capitel.

Oxydative Gährungen[1]).

Die Essiggährung.

Dass verdünnter Alkohol beim Stehenlassen an der Luft allmählich sauer wird, ist eine seit den ältesten Zeiten bekannte und zu praktischen Zwecken benutzte Erfahrung. Der chemische Vorgang dabei wurde naturgemäss bis zu dem Beginn der modernen chemischen Forschung nicht erkannt. Der erste, der die Absorption der Luft, also des Sauerstoffes bei diesem Sauerwerden der Weine beobachtete, war Rozier[2]) gegen Ende des 18. Jahrhunderts. Die Gleichung des Vorgangs wurde dann im Wesentlichen von Döbereiner[3]) fundirt.

Später entbrannte über die Frage der Ursächlichkeit der Essiggährung derselbe Streit zwischen Liebig[4]) und Pasteur[5]), wie der, den wir bei der Alkoholgährung geschildert haben. Es standen sich auch hier die Liebig'sche Ansicht einer Fermentation durch sich zersetzende albuminoide Substanz und die vitale Erklärung der Pasteur'schen Schule gegenüber, und auch hier neigte sich der Sieg den Anhängern der vitalistischen Theorie zu: der Zusammenhang der Essiggährung mit einer Reihe von niederen Organismen wurde unwiderleglich bewiesen[6]). Bevor wir auf diese Frage näher eingehen, müssen wir uns erst mit dem Chemismus der Reaction beschäftigen. Sie verläuft sehr einfach nach der Formel

$$CH_3CH_2OH + 2O = CH_3 \cdot COOH + H_2O,$$

wobei wir eine intermediäre Bildung von Acetaldehyd CH_3CHO annehmen müssen.

1) Genaueres s. Emmerling, Zersetz. stickstofffreier Subst. durch Bacterien. Braunschweig 1902.
2) cit. n. A. Mayer, Gährungschemie. l. c. S. 170.
3) *Döbereiner, Schweigger's Journ. f. Chemie. VIII. 321.
4) Liebig, s. u. a. Journ. f. pr. Ch. N. F. I. 35. 312.
5) *Pasteur, s. bes. Etudes sur le vinaigre. Paris 1868.
6) Zur Geschichte der Essiggährung s. Lafar, C. f. Bact. XIII. 684 (1893).

Die Fermentreaction verläuft ganz glatt in diesem Sinne, denn dass sich stets geringe Mengen Aldehyd noch nachweisen lassen, ist kein secundärer, nebenher gehender Process, sondern stellt nur den augenblicklichen Zustand des Reactionsverlaufes dar, bei dem ja stets eine Entstehung und Weiteroxydirung des Aldehyds eintritt.

Die Bedingungen, unter denen die Essigbildung vor sich geht, fallen im Wesentlichen mit der Beeinflussung der Microorganismen zusammen; sie findet nur in verdünnten alkoholischen Lösungen statt und verläuft am besten bei 25—30°, sehr träge unter 10° und über 45° und wird bei einer nur wenig höheren Temperatur völlig sistirt.

Das Enzym der Essigbildung aus Alkohol ist vor kurzem nach derselben Methode wie das alkoholbildende Enzym aus den Bakterien von E. Buchner und Meisenheimer[1]) erhalten worden, womit dieser Vorgang ebenfalls mit Sicherheit den Fermentprocessen zuzuschreiben ist.

Die Biologie der Essigsäuregährung. Auf den sauer werdenden Flüssigkeiten bildet sich eine Haut, die sogenannte Kahmhaut, die Liebig als das Ferment betrachtete, das bei seiner Zersetzung die Uebertragung des Sauerstoffes herbeiführen sollte.

Zuerst von Kützing[2]), dann von Thomson[3]) wurden indessen lebende Pflanzenzellen als Bestandtheile dieser Kahmhaut erkannt und dann besonders von Pasteur unter dem Namen Mycoderma aceti beschrieben und für die Erregung der Essiggährung verantwortlich gemacht. Da indessen der Name Mycoderma auf eine Beziehung zu Sprosspilzen hinweisen würde, die ähnliche Häute auf alkoholischen Flüssigkeiten bilden, ohne Essiggährung zu veranlassen, so hat man nach dem Vorgang von Zopf die Erreger der Essiggährung unter dem Gattungsnamen Bacterium vereinigt, der ihnen den richtigen Platz unter den Spaltpilzen anweist.

Man kennt jetzt eine ganze Reihe von solchen Essigpilzen, ausser dem Bacterium aceti noch das B. Pasteurianum, B. Kuetzingianum (Hansen[4])), B. oxydans, B. acetosum, B. acetigenum, Thermobacterium aceti u. a. m.[5])

Dass auch ein Sprosspilz Essiggährung hervorrufen kann, ist von Lafar[6]) beobachtet worden. Jedenfalls gilt dies aber nicht von

1) Buchner und Meisenheimer, Chem. Ber. 36. 634 (1903).
2) Kützing, J. prakt. Ch. XI. 390.
3) Thomson, Lieb. Ann. 83. 89 (1852).
4) Hansen, Unters. a. d. Technik d. Gährungsgewerbes. 1895.
5) Vgl. u. A. Wermischeff, Ann. Past. VII. 213 (1893.), Henneberg, C. f. Bact. (2) IV. 14. 71 (1898); Hoyer, ibid. 867. Chem. Centralbl. 1899. I. 854.
6) Lafar, C. f. Bacter. XIII. 1864 (1893).

dem Sacharomyces Mycoderma Reess, der keine Essiggährung erzeugt, sondern den Zucker direct verbrennt.

Die Keime dieser Microben kommen überall in der Luft vor, so dass alkoholische Flüssigkeiten, die der Luft ausgesetzt werden, bald von ihnen befallen werden. Wenn man dagegen die Luft abschliesst, bleiben die Flüssigkeiten steril, und es tritt keine saure Gährung ein. Der Nachweis für die unumgänglich nöthige Anwesenheit dieser Spaltpilze bei der Essiggährung ist in derselben Weise geführt worden wie bei der Alkoholgährung, so dass wir hier nicht näher darauf einzugehen brauchen.

Auch die Lebensbedingungen sind denen anderer Microben sehr ähnlich. Sie sind natürlich obligate Aërophile, gedeihen in allen Culturflüssigkeiten und können wie die Hefepilze ihren Stickstoffbedarf auch aus Ammonsalzen decken.

Bei ca. 60° werden sie getötet, während ihre Fermentthätigkeit schon etwas früher erlischt. Bei Temperaturen von unter 12—15° erlahmt ihre Thätigkeit. Im übrigen wirken Protoplasmagifte auf sie ganz analog wie auf die Hefepilze, nur gegen schweflige Säure zeigen sie eine viel grössere Empfindlichkeit, so dass man die Weine durch das „Schwefeln" mit Erfolg gegen ihre Thätigkeit schützen kann. Dass directes Sonnenlicht ihre Entwicklung stark hindert, hat Giunti[1]) nachgewiesen. Tolomei[2]) fand, dass elektrische Ströme, aber nur während ihres Durchgehens, die Essiggährung stören. Alkohol von über 10% tötet die Microben. Eine Besonderheit haben sie naturgemäss: neben einer grossen Empfindlichkeit gegen Alkalien (Henneberg[3])) eine grosse Resistenz gegen Essigsäure. Sie scheinen erst bei einem Säuregehalt von ca. 2% in vollster vitaler Blüte zu stehen, sind aber auch gegen viel höhere Concentrationen unempfindlich. Es liegt hier ein sehr bemerkenswerthes Beispiel intensivster Anpassung an die Lebensbedingungen bei den sonst so säurefeindlichen Bacterien vor. Sie sind allerdings gegen Salzsäure sehr empfindlich (Cohn[4])). Sie sind auch im Stande, Glucose zu vergähren, einige auch Arabinose, Mannit, Erythrit etc. Desgleichen können sie auch Propylalkohol oxydiren (Henneberg[3])).

Eine besondere Stütze seiner chemischen Theorie fand Liebig in dem Umstande, dass dieselbe Oxydation von Alkohol zu Essigsäure auch durch Platinmohr, also activirten Sauerstoff ohne lebende Zellen,

1) Giunti, Maly's Jb. XX. 439 (1890).
2) Tolomei, Koch's Jahrb. Gährgsorg. 1890. 139.
3) Henneberg, l. c.
4) Cohn, Z. physiol. Ch. XIV. 75 (1890).

vor sich geht. Jedoch haben A. Mayer und Knieriem[1]) nachgewiesen, dass die Bedingungen dieser Reaction so total andere sind, dass man eben nur ihre Endresultate vergleichen kann, wie man auch bei den hydrolytischen Fermentationen dieselben Abbauproducte durch verdünnte Säuren erzielt, und wie man natürlich auch anderweitig rein chemisch den Alkohol in Essigsäure überführen kann, z. B. durch Chromsäure etc.

Die Alkoholoxydation durch Platinmohr geht nämlich mit Alkohol jeder Concentration und mit seinen Dämpfen in gleicher Weise vor sich, während die Essiggährung mehr als 10 % Alkohol nicht verträgt. Sie wächst ferner mit steigender Temperatur, wo die Gährung längst völlig verschwunden ist.

Ausser dieser Essiggährung, die die wichtigste oxydative Gährung darstellt, giebt es noch einige verwandte Processe, die von Microorganismen ausgelöst werden und die wir ebenfalls, als zu den Oxydationsgährungen gehörig, kurz erwähnen wollen.

Eine Vergährung von Zuckern und zwar u. a. d-Glucose, Galactose, Mannit etc. zu Oxalsäure beschreibt Zopf[2]), die durch einen echten endosporen Sacharomyces, S. Hansenii ausgelöst wird, der im Baumwollsaatmehl gefunden wurde. Er bildet keinen Alkohol. Auch Bacterien bilden Oxalsäure (Banning[3]).

Citronensäure entsteht aus Zuckern durch zwei specifische Hyphomyceten, Citromyces Pfefferianus und glaber, nach Wehmer[4]) in sehr reichlicher Menge; auch diesen Vorgang kann man als eine Oxydationsgährung auffassen.

Eine Oxydationsgährung, deren Product eine Ketohexose, die Sorbose ist, beschreibt Bertrand[5]).

Man hatte schon vorher im Saft der Vogelbeeren, die in frischem Zustande den sechswerthigen Alkohol Sorbit enthalten, eine eigenartige Ketohexose, die Sorbose aufgefunden, doch fand man sie nicht immer, und die Bedingungen ihres Entstehens waren unbekannt.

Bertrand constatirte nun, dass diese Bildung von Sorbose geknüpft ist an die Entwicklung eines Microorganismus, den er als identisch mit dem Bacterium xylinum hinstellt[6]), und der in die Masse

1) A. Mayer und Knieriem, Landw. Versuchsstat. XVI. 305.
2) Zopf, Ber. d. d. botan. Ges. 1889. 94.
3) Banning, C. f. Bact. (2.) VIII. 395 (1902).
4) Wehmer, Sitzb. d. Berl. Acad. Math. Phys. Kl. 1893. 519.
5) Bertrand, C. R. 122. S. 900 (1896).
6) Dies ist dann von Emmerling bestätigt worden, s. Chem. Ber. 32. 541 (1899).

hineingelangt durch Vermittlung einer kleinen rothen Fliege, Drosophila funebris. Der beste Nährboden für dieses Bacterium ist eine Mischung von Wein und Essig. Es hat die Fähigkeit, Sorbit zu Sorbose zu oxydiren, Mannit zu Fructose (Vincet und Delachanel[1]); ferner alle mehratomigen Alkohole, wie Erythrit, Arabit etc., auch Glycerin (zu krystallisirtem Dioxyaceton), sowie auch Xylose zu Xylonsäure (Bertrand[2]). Ein Bacterienferment, das Glucose zu Gluconsäure oxydirt, fand Boutroux im Micrococcus oblongus; ein anderes oxydirte die erst gebildete Gluconsäure in Form ihres Kalksalzes weiter zu Oxygluconsäure[3]). Einen Spaltpilz, der Glycerin zu Aethylenglycol und Ameisensäure oxydirt, hat Rensch[4]) beschrieben. Eine Oxydation von Chinasäure zu Protocatechusäure durch einen Bac. chinicus fanden Emmerling und Abderhalden[5]).

Es unterliegt keinen Zweifel, dass es auch sonst noch unter den von niederen Organismen bewirkten Umsetzungen so manchen Process giebt, den man als Oxydationsgährung zu bezeichnen ein Recht hätte, indessen habe ich nur diese wenigen herausgegriffen, weil sie relativ einfach und einheitlich verlaufen, während andere zu eng mit anderen biochemischen Processen verknüpft sind.

1) Vincet und Delachanel, C. R. **125**. 716 (1897).
2) Bertrand, C. R. **126**. 842. 984; **127**. 124. 728. 762 (1898).
3) Boutroux, Ann. Inst. Past. II. 308 (1887). C. R. **127**. 1224 (1898).
4) Rensch, Pharmac. Ztg. **39**. 864.
5) Emmerling und Abderhalden, Centrbl. f. Bact. (2.) X. 1903.

Nachtrag

zu S. 139.

Die Constitution des Histidins ist inzwischen von S. Fränkel[1]) aufgehellt worden.

Er erhielt es aus Hämoglobin als Quecksilberverbindung, die leicht in das schön krystallisirende Histidinchlorhydrat übergeführt werden kann. Es ist eine Aminocarbonsäure eines Methyldihydropyrimidins, des Histins, von der Formel

$$\begin{array}{ccl} HN & - & CH_2 \\ | & & | \\ HC & & C\cdot CH_2\cdot NH_2 \\ \| & & \| \\ N & - & C\cdot COOH. \end{array}$$

Von den Hexonbasen muss es danach gänzlich getrennt werden.

1) Fränkel, Sitzb. Wiener Acad. 112. IIb. März 1903. S.-A.

Sachregister.

A.

B.

C.

R.

S.

T.

U.

V.

W.

X.

Z.

Alphabetisches Litteraturverzeichniss, zugleich Namenregister.

(Die liegenden Ziffern bedeuten die Seitenzahlen, wo die betr. Arbeiten citirt sind. Die mit * bezeichneten Arbeiten waren mir nicht zugänglich).

1) **Abeles**, Beitr. zur Lehre von den sacharific. Fermenten. Med. Jb. II. 1876. *233*.

2) **Abeles**, Zur Frage der alkoholischen Gährung ohne Hefezellen. Chem. Ber. **31**. 2261 (1898). *306*.

3) **Abelous**, Sur la présence dans l'organisme animal d'un ferment soluble décomposant l'eau oxygénée. Soc. Biol. **51**. 328. (1899). *45*. *356*.

4) **Abelous**, Sur l'existence dans les urines etc. Soc. Biol. **51**. 330 (1899). *45*.

5/6) **Abelous et Biarnès**, Sur le pouvoir oxydant le sang; Recherches sur le mécanisme des oxydations organiques. Arch. de Physiol. **1895**. 195. 239. *352*.

7/8) **Abelous et Biarnès**, Mécanisme des oxydations organiques. — Hiérarchie des organes au point de vue du pouvoir oxydant. Soc. Biol. **48**. 97. 262 (1896). *352*.

9/10) **Abelous et Biarnès**. Existence d'une oxydase chez l'écrevisse. — Oxydase des crustacés. Soc. Biol. **49**. 175. 249 (1897). *354*.

11/14) **Abelous et Biarnès**, Soc. Biol. Existence d'une oxydase chez les mammifères (49. 285). Nouvelles expériences sur l'oxydation des mammifères (49. 493). Réponse au remarques de M. Bourquelot (49. 559). Existence chez les mammifères de globulines possédant les propriétés des ferments solubles oxydants (49. 596). *354*.

15) **Abelous u. Biarnès**, Existence chez les mammifères d'un ferment soluble oxydant l'aldéhyde salicylique. Soc. Biol. **50**. 495 (1898). *349*.

16) **Abelous et Biarnès**, Sur l'existence chez les mammifères d'une oxydase-globuline, ses caractères et ses propriétés. Arch. de physiol. **1898**. 664. *354*.

17) **Abelous et Gérard**, Sur la présence dans l'organisme animal d'un ferment soluble réducteur. Pouvoir réducteur des extraits d'organes. C. R. **129**. 164 (1899). *370*.

18) **Abelous et Ribaut**, Sur l'existence d'un ferment soluble opérant la synthèse de l'acide hippurique aux dépens du glycocolle et de l'acide benzoïque. Soc. Biol. **52**. 543 (1900). *53*.

19) **Achalme**, Propr. pathog. de la trypsine. Ann. Pasteur **XV**. 737 (1901). *69*. *123*.

20) **Achard et Clerc**, Sur le pouvoir antiprésurant du sérum à l'état pathologique. C. R. **130**. 1727. *184*.

21) **Achard et Clerc**, Sur la lipase à l'état pathologique. C. R. **129**. 781 (1899). *286*.

22/23) **Achard et Weil**, Insuffisance glycolytique. — Différents sucres dans l'insuffisance glycolytique. Soc. Biol. **50**. 139. 986 (1898). *362*.

24) Acree and Hinkins, Hydrolysis of triacetyl glucose. Amer. Chem. Journ. 28. 370 (1902). *61.*

25) Adametz, Saccharomyces lactis, eine neue Milchzucker vergährende Hefeart. C. f. Bact. V. 116 (1889). *329.*

26) Adametz, Ueber Micrococcus Sarnthalii. Cbl. f. Bact. (2.) 1. 465 (1895). *298.*

27) Åkermann, Skand. Arch. f. Physiol. V. 134 (1895). *98.*

28) Albert, Einfacher Versuch zur Veranschaulichung der Zymase-Wirkung. Chem. Ber. 33. 3775 (1900). *308.*

29) Albert u. Buchner, Hefepresssaft und Fällungsmittel I und II. Chem. Ber. 33. 266. 971 (1900). *308.*

30) Albert, Buchner u. Rapp, Herstellung von Dauerhefe mittels Aceton. Chem. Ber. 35. 2376 (1902). *308.*

31) Albertoni, Ueber die Wirkung des Pepsins auf das lebende Blut. C. med. Wiss. 1878. No. 36. *68.*

32) Albertoni, Ueber das Verdauungsvermögen des Pankreas im Fötus. Maly's Jb. VIII. 254 (1878). *121.*

33) Alexander, Zur Kenntniss des Caseïns u. seiner peptischen Spaltungsproducte. Z. phys. Ch. 25. 411 (1898). *114. 115. 118.*

34) Amthor, Ueber den Saccharomyces apiculatus. Z. phys. Ch. XII. 558 (1888). *328.*

35) d'Arsonval, Action physiologique des très basses températures. Soc. Biol. 44. 808 (1892). *37.*

36) Arthus, Recherches sur la coagulation du sang. Thèse. Paris 1890. *188.*

33/38) Arthus, Glycolyse dans le sang et ferment glycolytique. Arch. de phys. (5.) III. 425 (1891); (5.) IV. 337 (1892). *360.*

39) Arthus, La nature des enzymes. Paris 1896. (Thèse.) *18. 29. 36.*

40) Arthus, Le plasma fluoré. Journ. de phys. et path. III. 387 (1901). *190.*

41) Arthus, Un reactif du fibrinferment. Soc. Biol. 53. 962 (1901). *190.*

42) Arthus, Sur la production du fibrinferment. Soc. Biol. 53. 1024 (1901). *192.*

43) Arthus, Sur la monobutyrinase du sang. Journ. de phys. et path. IV. 455 (1902). *286.*

44) Arthus u. Huber, Ferments solubles et ferments figurés. Arch. de physiol. (5.) IV. 651 (1892). *40.*

45) Arthus u. Pagès, Recherches sur l'action du Lab et la coagulation du lait dans l'estomac et ailleurs. Arch. de Phys. (5.) II. 330. 540 (1890). *179.*

46) Arthus u Pagès, Nouvelle théorie chim. de la coagul. du sang. Arch. de phys. (5.) II. 739 (1890). *189.*

47) Ascher, Die Leukocyten als Complementbildner bei der Cholera. C. f. Bact. 32. No. 6 (1902). *171.*

48) Aschoff, Ehrlich's Seitenkettentheorie. Braunschweig 1902. *163. 165. 166. 171.*

49) Ascoli, Ueber die Stellung der Leber im Nucleinstoffwechsel. Pflüger's Arch. 72. 340 (1898). *359.*

50) Ascoli, Cbl. f. Phys. 1902. 5. *87.*

51) Aso, Ueber oxydirende Enzyme im Pflanzenkörper. Bull. Coll. Agric. Tokio V. 2. 226, cit. Chem. Cbl. 1902. II. 1418. *351. 367.*

52) Astaschewski, Ueber die diastatische Kraft des Speichels bei verschiedenen Thieren. Cbl. med. Wiss. 1877. 531. *229.*

53) Atkinson, Monit. scientif. 1882. 7. *223.*

54) Auerbach, Ueber die Ursache der Hemmung der Gelatineverflüssigung durch Bacterien durch Zuckerzusatz. Cbl. f. Bacter. (2.) IV. 492. *83.*

55) **B**abcock u. Russel, Galactase, das der Milch eigenthümliche Fer-

ment. C. f. Bact. (2.) VI. 22. 45. 79 (1900). *142.*

56) **Bach**, Du rôle des peroxydes dans les phénomènes d'oxydation lente. C. R. **124.** 951. *350.*

57) **Bach** u. **Chodat**, Ueber den gegenwärtigen Stand der Lehre von den pflanzlichen Oxydationsfermenten. Biochem. Cbl. I. No. 11 12 (1903). *350.*

58) **Baeyer**, Ueber die Wasserentziehung und ihre Bedeutung für das Pflanzenleben u. die Gährung. Chem. Ber. III. 73 (1870). *311.*

59) **Baginski**, Vorkommen und Verhalten einiger Fermente. Z. phys. Ch. VII. 209 (1882). *174. 177. 186.*

60) **Baker**, The action of ungerminated barley diastase on starch. Proc. Chem. Soc. XVIII. 134. *216.*

61) **Balke**, Zur Kenntniss der Spaltungsproducte des Carniferins. Z. phys. Ch. 22. 248. *133.*

62) ***Balling**, Gährungschemie. 1845. I. *4.*

63) **Bang**, Die Guanylsäure der Pankreasdrüse u. deren Spaltungsproducte. Z. phys. Ch. **26.** 133 (1898). *118.*

64) **Bang**, Ueber Parachymosin, ein neues Labferment. Pflüg. Arch. **79.** 425 (1900). *185.*

65) **Banning**, Zur Kenntniss der Oxalsäurebildung. C. f. Bact. (2.) VIII. 395 (1902). *374.*

66) **Baranetzki**, Die stärkeumbildenden Fermente in den Pflanzen. Leipzig 1878. *202. 208. 210. 222.*

67) ***Bardet**, Bull. de la Soc. d. Thérap. XVIII. 13 (1887). *34.*

68) **Barfoed**, Ueber Dextrin. Journ. f. prakt. Ch. N. F. VI. 331 (1872). *310.*

69) **Barth**, Zur Kenntniss des Invertins. Chem. Ber. XI. 474. *205. 251.*

70) **de Bary**, Vorlesg. über Bacterien. Leipzig. 1885. *10. 85. 187. 215. 304.*

71) **de Bary**, Ueber einige Sclerotinien etc. Botan. Ztg. 1886 415. *242.*

72) **Basch**, **Untersuch. ü. d. chylopoetische u. uropoetische System der Blatta orientalis. Sitzber. Wiener Ak. 33 (1858), Math.-Nat. Kl. 255.** *100.*

*73) **Bastianelli, Moleschott's Unters.** 1892. 138. *232.*

74) **Bau, Ueber ein neues Enzym der** Hefe. Chemikerztg. **1895. 1873.** *263.*

75) **Bau, Z. f. Spirit.-Indust.** 1899. 232. *263.*

76) **Baum, Antagonismus. Diss. Rostock** 1892. *41.*

77) **Baum, Ueb. ein neues Product der Pankreasselbstverdauung. Hofm. Beitr.** III. 439 (1903). *141.*

78) **Baumann u. Bömer, Z. f. Unters. v. Nahr- u. Genussm. Bd. I.** 166 (1898). *114.*

79) **Baumann u. Herter, Synthese von Aetherschwefelsäuren und das** Verhalten **einiger aromatischer Substanzen im Thierkörper. Z. phys.** Ch. I. 265 (1877). *346.*

80) **Baumgarten, Ueber Hämolyse in heterogenem Serum. Berl.klin.Woch.** 1902. 997. *166.*

81) **Bauer, Einw. gespannter Wasserdämpfe auf Keratin. Z. phys.** Ch. **35.** 354 (1902). *119.*

82) **Bayliss u. Starling, The mechanism of pancreatic secretion. Journ.** of physiol. **28. Nr. 5** (1902). *123.*

83) **Béchamps, De l'influence que** l'eau pure ou **chargée de divers sels exerce à froid sur le sucre de canne. C. R. 46. 44 (1858).** *260.*

84) **Béchamps, Sur la matière albuminoïde, ferment de l'urine. Recherches sur la fonction du rein. C. R.** 60. 445 (1865). *237.*

85) **Béchamps, Sur l'action du borax** dans les phénomènes **de fermentation.** C. R. 75. 837. *254.*

86/88) **Béchamps, Compt. Rend. 94** (1882). Des microzymas **gastriques et** de leur pouvoir **digestif (S. 582). Les** microzymas des **glandes stomacales** et leur pouvoir **digestif. Réponse à**

cette question: l'estomac se digère-t-il? (S. 879). Les microzymas gastriques et la pepsine (S. 970). *99.*
89) **Béchamps**, Sur la zymase du lait de femme. C. R. **96**. 1508. *236.*
90) **Béchamps et Baltus**, Études sur les modifications apportées par l'organisation animale aux diverses substances albuminoïdes injectées dans les vaisseaux. (3e série: Injections intra-veineuses de ferments solubles). C. R. **90**. 373. 539 (1880). *67. 70.*
91) **Beckolt*, Zeitsch. d. allg. österr. Apothekervereins. XVIII. 361. 373. Pharmaceutic. Journal. IIIe Sér. X. 343. 383. *149.*
92) **Behrens**, Ueber die oxydirenden Bestandtheile u. das Ferment des deutschen Tabaks. C. f. Bact. (2.) VII. 1. *366.*
93) **Beitler**, Ueber das Chloroproteïnochrom. Chem. Ber. **31**. 1604 (1898). *140.*
94) **Bellamy**, Prod. of the tryptic ferment. Journ. of physiol. **27**. 323 (1901). *131.*
95) **Bendersky**, Ueber die Ausscheidung der Verdauungsfermente (Pepsin, Trypsin, Ptyalin) aus dem Organismus bei gesunden u. kranken Menschen. Virch. Arch. **121**. 554. *102. 122.*
96) **Bendix u. Bickel**, Kritische Beiträge zur Lehre von der Glycolyse. Dtsch. med. Woch. 1902. Nr. 1. 10. *363.*
97) **Bendix u. Bickel**, Experiment. krit. Beitrag zur Lehre von der Glycolyse. Z. f. klin. Med. **48**. Nr. 1/2 (1903). *363.*
98) **Benjamin**, Zur Lehre von der Labgerinnung. Virch. Arch. **145**. 30 (1896). *183.*
99) **Bergmann u. Angerer**, Festschrift zum 500j. Best. d. Univ. Würzburg 1882. 137. *67.*
100) ***Cl. Bernard**, Revue scientif. 1873. 515. *83.*
101) **Cl. Bernard**, Sur le mécanisme de la formation du sucre dans le foie. C. R. **41**. 461 (1855). *233.*
102) **Cl. Bernard**, C. R. 1856. I. Suppl. 403. *140.*
103) **Cl. Bernard**, Leç. d. physiol. expér. II. 1856. *120.*
104) **Cl. Bernard**, Vorlesungen über Diabetes, übers. v. Posner. 1878. *261. 359.*
105) **Cl. Bernard**, Critique expérimentale sur le mécanisme de la formation du sucre dans le foie. C. R. **85**. 519 (1877). *233.*
106) **Cl. Bernard**, Leç. pathol. expér. Paris. 1890. *276. 285.*
107) **Berg**, Sur le mode de formation de l'élatérine dans l'ecballium élatérium. Bull. soc. chim. (3.) XVII. 85 (1897). *282.*
108) **Bert**, Influence de l'air comprimé sur les fermentations. C. R. **80**. 1579. *43. 317.*
109) **Bertels**, Ueber den Einfluss des Chloroforms auf die Pepsinverdauung. Virch. Arch. **130**. 497. *107.*
110) **Berthelot**, Recherches sur la maturation des fruits. C. R. **51**. 980 (1860). *251.*
111) **Berthelot**, Sur la décomposition de l'acide formique. C. R. **59**. 901 (1864). *294. 318.*
112) **Berthelot**, Remarques sur la formation de l'alcool et de l'acide carbonique et sur l'absorption de l'oxygène par les tissus des plantes. C. R. **128**. 1366. *319.*
113/16) **Bertrand**, Comptes rendus: Sur le latex de l'arbre à laque (**118**. 1215). Sur la laccase et sur le pouvoir oxydant de cette diastase (**120**. 266). Sur la recherche et la présence de la laccase dans les végétaux (**121**. 166). La laccase dans les champignons (**121**. 783). *364. 365.*
117) **Bertrand**, Préparation biochimique du sorbose. C. R. **122**. 900 (1896). *374.*

118/20) Bertrand, Comptes rendus: Sur les rapports qui existent entre la constitution chimique des composés organiques et leur oxydabilité sous l'influence de la laccase (**122**. 1132). Sur une nouvelle oxydase, ou ferment soluble oxydant, d'origine végétable (**122**. 1215). Sur la présence simultanée de la laccase et de la tyrosinase dans le suc de quelques champignons (**123**. 463). *364. 365.*
121) Bertrand, La laque et la laccase. Arch. de physiol. **1896**. 23. *364.*
122) Bertrand, Sur une nouvelle oxydase ou ferment soluble oxydant, d'origine végétale. Bull. Soc. Chim. **1896**. 793. *365.*
123/24) Bertrand, Sur l'intervention du manganèse dans les oxydations provoquées par la laccase. Sur l'action oxydante des sels manganeux et sur la constitution chimique des oxydases. C. R. **124**. 1032. 1355 (1897). *368.*
125/28) Bertrand, Comptes rendus: Sur le produit d'oxydation de la glycérine par la bactérie du sorbose (**126**. 842). Préparation biochimique de la dioxyacétone cristallisée (**126**. 984). Action de la bactérie du sorbose sur le sucre de bois (**127**. 124). Action de la bactérie du sorbose sur les sucres aldéhydiques (**127**. 728). *375.*
129/31) Bertrand et Mallévre, Comptes rendus: Sur la pectase et sur la fermentation pectique (**119**. 1012). Nouvelles recherches sur la pectase et sur la fermentation pectique (**120**. 110). Sur la diffusion de la pectase dans le règne végétal et sur la préparation de cette diastase (**121**. 726). *197.*
132) Beyerinck, Die Lactase, ein neues Enzym. Cbl. f. Bacter. VI. 14 (1889). *204.*
133) Beyerinck, Schizosaccharomyces octosporus, eine achtsporige Alkoholhefe. C. f. Bact. XVI. 49 (1894). *329.*
134) **Beyerinck, Ueber Nachweis und Verbreitung der Glucase, des Enzyms der Maltose. C. f. Bact.** (2.) I. 221 (1895). *199. 201. 214. 218. 240. 247. 329.*
135) **Beyerinck, Ueber ein Contagium vivum fluidum als Ursache der Fleckenkrankheit der Tabaksblätter.** C. f. Bact. (2.) 1899. 27. *29.*
136) **Beyerinck, Ueber Glucoside und Enzyme in den Wurzeln einiger Spiraeaarten. C. f. Bact.** (2.) V. 425 (1899). *277.*
137) **Beyerinck, Ueber die Indigofermentation. Maly's Jb. 30.** 973 (1900). *282.*
138) **Beyerinck, Anhäufungsversuche mit Ureumbacterien. C. f. Bact.** (2.) VII. 33 (1901). *293.*
139) **Bial, Ueber das diastatische Ferment der Leber. Pflüg. Arch. 52.** 137. *235.*
140) **Bial, Weitere Beobachtungen über das diastatische Ferment des Blutes.** Pflüg. Arch. **53**. 156. *235. 236. 250.*
141) **Bial, Ein Beitrag zum Chemismus des diastat. Blutfermentes.** Pflüg. Arch. **54**. 72 (1893). *250.*
142) **Bial, Diastatische Fermente des Blutes und der Lymphe. Pflüg.** Arch. **55**. 434. *236.*
143) **Bial. Ist die Zuckerbildung in der Leber Function diastatischer Enzyme oder vitaler Thätigkeit der Leberzellen. Du Bois Arch. 1901.** 247. *234.*
144) **Bidder u. Schmidt, Verdauungssäfte.** 1852. *94. 229.*
145) **Biedermann, Beiträge zur vergleichenden Physiologie der Verdauung. 1. Die Verdauung der Larve von Tenebrio molitor. Pflüg.** Arch. **72**. 105 (1898). *101. 122. 284. 286. 355.*
146) **Biedermann u. Moritz, Beiträge zur vergleichenden Physio-**

logie der Verdauung. II. Pflüg. Arch. **73**. 247 (1898). *233. 243. 244.*

147) Biernacki, Das Verhalten der Verdauungsenzyme bei Temperaturerhöhungen. Z. f. Biol. **28**. 49. *103. 125. 226.*

148) Bierry et Henri, Lait réactif sensible du suc pancréatique. Soc. Biol. **54**. 667 (1902). *125. 131.*

149) Biffen, Annals of Botany. XIII. 336 (1899). *289.*

150) Biffi, Zur Kenntniss der Spaltungsproducte des Caseïns bei der Pankreasverdauung. Virch. Arch. **152**. 130. *142.*

151) Bing, Ueber das Jecorin. Cbl. f. Phys. XII. 210 (1898). *364.*

152) Biondi, Beiträge zur Lehre der fermentativen Processe in den Organen. Virch. Arch. **144**. 373 (1896). *143.*

153) Bitter, Ueber die Fermentausscheidung des Koch'schen Vibrio der Cholera asiatica. Arch. f. Hyg. V. 245. (1886). *155. 223.*

154) Bizio, Nouvelles recherches sur le glycogène. C. R. **65**. 175. *203.*

155) *Blanchard, Sur les fonctions des appendices pyloriques. Bull. soc. zool. VIII. (1883). *100.*

156) Bliss and Novy, Action of formaldehyde on enzymes. Journ. of exper. med. IV. 47 (1899). *108. 127.*

157) Blondeau, Journ. pharm. chim. XII. 244. 336 (1847). *296.*

158) Blumenthal, Ueber Organsafttherapie bei Diabetes mellitus. Z. f. physikal. u. diätet. Therapie. **1898**. 250. *356. 363.*

159) Boas, Ueber das Labferment im gesunden u. kranken Magen. C. med. Wiss. 1887. 417. *174.*

160) Boas, Untersuchungen über das Labferment und Labzymogen im gesunden und kranken Magen. Z. f. klin. Med. XIV. 249 (1888). *174. 175. 182.*

161) Bodin u. Lenormand, Note sur la production de caséase par un Streptothrix parasite. Ann. Pasteur XV. 279 (1901). *155.*

162) Böhm, Ueber die Respiration von Landpflanzen. Wiener Acad. **67**. (1.) 211 (1873). *319.*

163) Boerhave, Elementa chimiae. II. London. 1732. *290.*

164) Bokorny, Enthalten die keimenden Samen peptonisirende Fermente? Pflüg. Arch. **90**. 95 (1902). *149.*

165/66) Bondonneau, De la saccharification des matières amylacées. C. R. **81**. 972. 1210. Dextrine pure du malt. C. R. **81**. 972. 1210; Bull. Soc. Chim. **23**. 98 (1875). *212.*

167) Bordet, Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les vaccinés. (Ann. Past. IX. 462. 1895). *164.*

168) Bordet, Mode d'action des sérums préventifs. (Ann. Past. X. 193. 1895). *164.*

169/70) Bordet, Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang défibriné. (Ann. Past. XII. 688. 1898). Le mécanisme de l'agglutination. (Ann. Past. XIII. 225. 1899). *164.*

171/72) Bordet, Agglutination et dissolution des globules rouges. (Ann. Past. XIII. 273. 1899). Les sérums hémolytiques, leurs antitoxines et les théories des sérums cytolytiques. (Ann. Past. XIV. 257. 1900). *164.*

173) Bordet, Sur le mode d'action des sérums cytolytiques et sur l'unité de l'alexine dans un même sérum. (Ann. Past. XV. 303. 1901). *164.*

174) Bordet et Gengou, Recherches sur la coagulation du sang. Ann. Past. XV. 129 (1901). *189.*

175) Borzi, Inzengaea, nuovo fungo parassita delle olive. Botan. Cbl. **24**. 14 (1885). *289.*

176) Bouchardat, Mémoire sur les

ferments alcooliques. C. R. **18**. 1120 (1844). *322*.

177) Bouchardat, C. R. XX. 111 (1845). *275*.

178) Bouchardat, Sur la fermentation saccharine ou glucosique. Ann. de chim. et phys. (3.) XIV. 61. *39*.

179) Bouchardat et Sandras, C. R. XX. 143. 1085 (1845). *229*.

180) Bouchut, Sur un ferment digestif contenu dans le suc de figuier. C. R. **91**. 67 (1880). *152*.

181) Bouffard, Observations sur quelques propriétés de l'oxydase des vins. C. R. **124**. 706. *367*.

182) *Bougarel, De l'amygdaline. Thèse. Paris 1877. *272*.

183) Bourquelot, Sur les propriétés physiologiques du maltose. C. R. **97**. 1000 (1883). *250*.

184) Bourquelot, (Maltase). Journ. de pharm. 1883. 420. *247*.

185) Bourquelot, Digestion chez les Mollusques. Thèse. Paris 1885. *272*.

186/88) Bourquelot, Sur la fermentation alcoolique «élective» d'un mélange de lévulose et de maltose. Sur la ferment. alcool. «élective» d'un mélange de glucose et de lévulose. Recherches sur la fermentation alcoolique élective. III. Note. Soc. Biol. **37**. 191. 221. 356 (1885). *316*.

189) Bourquelot, Recherches sur les propriétés physiol. du maltose. Journ. de l'anat. u. phys. **22**. 162 (1886). *247*.

190) Bourquelot, Recherches sur le propr. phys. du maltose. Journ. de l'anat. u. phys. **22**. 200 (1886). *249*.

191/202) Bourquelot, Arbeiten über Enzyme in Pilzen etc. Bull. soc. Mycol. IX. 64. 189 (1893). *262*. *268*.

Bourquelot, (Trehalase). Soc. Biol. **45**. 425 (1893). *263*.

Bourquelot, (Emulsin). Soc. Biol. **45**. 653. 804 (1893). *271*.

Bourquelot, Bull. soc. mycol. de France. IX. 230 (1893); X. 235 (1894). *154*. *222*. *248*.

Bourquelot, Journ. de pharm. et Chim. (6.) IV. 145. 241. 410 (1893). V. 465 (1894); VI. 426 (1895). *366*.

Bourquelot, Bull. soc. mycol. X. 49 (1894). *271*.

Bourquelot, Journ. Pharm. Chim. (5.) **30**. 433 (1894). *271*.

Bourquelot, Journ. de pharm. et chim. August 1895. *248*.

Bourquelot, Journ. de Pharm. Chim. **1896**, Juni. *277*.

203) Bourquelot, Hydrolyse du raffinose par l'Aspergillus niger. Soc. Biol. **48**. 205 (1896). *252*.

204) Bourquelot, Actions successives d'un ferment soluble hydratant et d'un ferment soluble oxydant. Soc. Biol. **48**. 316 (1896). *365*.

205/08) Bourquelot, Soc. Biol.: Les ferments oxydants dans les champignons (**48**. 811). Influence de la réaction du milieu sur l'activité du ferment oxydant les champignons (**48**. 825). Propriétés des solutions aqueuses chloroformées de ferment oxydant des champignons, et sur la durée de l'activité de ces solutions (**48**. 893). Emploi du gaiacol comme réactif des ferments oxydants (**48**. 896). *366*.

209) Bourquelot, (Oxydase). Soc. Biol. **46**. 896 (1896). *348*.

210) Bourquelot, Bull. soc. mycol. XIII. 65 (1897). *366*.

211) Bourquelot, Présence des ferments oxydants dans quelques substances médicamenteuses. Soc. Biol. **49**. 25 (1897). *366*.

212) Bourquelot, Remarques sur les matières oxydantes que l'on peut rencontrer chez les êtres vivants. Soc. Biol. **49**. 402 (1897). *356*.

213) Bourquelot, Ferments oxydants Soc. Biol. **50**. 381 (1898). *352*.

214) Bourquelot, (Pectinase). Journ. de Pharm. u. Chim. 1899. *245.*

215) Bourquelot, Sur les ferments solubles décomposants l'eau oxygénée. Soc. Biol. **51**. 402 (1899). *349.*

216) Bourquelot, Sur quelques points relatifs à l'action de la salive sur le grain d'amidon. C. R. **104**. 71. *226. 228.*

217) Bourquelot, Sur les caractères de l'affaiblissement éprouvé par la diastase sous l'influence de la chaleur. C. R. **104**. 576. *216. 229.*

218/19) Bourquelot, Des composés oxydables sous l'influence du ferment oxydant des champignons Action du ferment soluble oxydant des champignons sur les phénols insolubles dans l'eau. C. R. **123**. 315. 423. *366.*

220) Bourquelot, Sur l'hydrolyse des polysacharides par les ferments. Journ. pharm. chim. (6.) XVI. 578 (1902). *253. 269.*

221) Bourquelot, Généralités sur les ferments solubles, qui déterminent l'hydrolyse des polysacharides et des glycosides. Soc. Biol. **55**. 386 (1903). *264.*

222) Bourquelot et Bertrand, Bull. soc. myc. XII. 18. 27 (1896). *366.*

223) Bourquelot et Gley, Soc. Biol. **47**. 515 (1895). *263.*

224) Bourquelot et Hérissey, Bull. soc. mycol. de France. IX. 64. 189 (1893). *264.*

225) Bourquelot et Hérissey, Sur les propriétés de l'émulsine des champignons. (C. R. **1895**. 693), s. a. Bull. soc. mycol. X. 235 (1894). *248. 265.*

226) Bourquelot et Hérissey, Bull. soc. mycol. XI. 199. 235 (1895). *275.*

227) Bourquelot et Hérissey, Sur l'existence dans l'orge germée d'un ferment soluble agissant sur la pectine. Soc. Biol. **50**. 777 (1898). *245.*

228/32) Bourquelot et Hérissey, Comptes Rendus: Sur la composition de l'albumen de la graine de caroubier; production de galactose et de mannose par hydrolyse (**129**. 228). Sur la composition de la graine de caroubier (**129**. 391). Sur les ferments solubles produits, pendant la germination par les graines à albumen corné. (**130**. 42). Sur l'individualité de la séminase, ferment soluble sécrété par les graines de légimineuses à albumen corné pendant la germination (**130**. 340). Les hydrates de carbone de réserve des graines de Luzerne et de Fenugrec (**130**. 734). *245.*

233) Bourquelot et Hérissey, Recherche et présence d'un ferment soluble protéo-hydrolytique dans les champignons. C. R. **127**. 666. *154.*

234) Bourquelot et Hérissey, Journ. Pharm. Chim. (6.) XI. 104 (1900). *245.*

235) Bourquelot et Hérissey, Sur l'individualité de la „Séminase", ferment soluble, sécrété par les graines de légumineuses à albumen corné en germination. Soc. Biol. **52**. 114 (1900). *245.*

236) Bourquelot u. Hérissey, L'émulsine des amandes. Soc. Biol. **55**. 219 (1903). *268.*

237) Boutron u. Frémy, Untersuchung des schwarzen und weissen Senfsamens. Liebig's Ann. **34**. 230 (1840). *278.*

238) Boutron et Frémy, Recherches sur la fermentation lactique. Ann. Chim. Phys. (3.) II. 257 (1841). *295.*

239) Boutron et Robiquet, Nouvelles expériences sur la semence de moutarde. Journ. de Pharm. XVII. 279 (1852). *277.*

240) Boutroux, Sur la fermentation lactique. C. R. **86**. 605 (1878). *296.*

241) Boutroux, Sur l'oxydation du glycose par les microbes. Ann. Pasteur II. 508 (1887). *375.*

242) Boutroux, Sur les produits d'oxydation de l'acide oxygluconique. C. R. 127. 1224 (1898). *375.*

243) Braconnot, Recherches sur la fermentation du fromage, sur l'oxide caséeux et l'acide caséique. Ann. chim. phys. 36. 160. *295.*

244) Brasse, Sur la présence de l'amylase dans les feuilles. C. R. 99. 878. *219.*

245) Brasse, Action de la diastase du malt sur l'amidon cru. C. R. 100. 454. *228.*

246) Bréaudat, Sur le mode de formation de l'indigo dans les procédés d'extraction industrielle. Fonctions diastasiques des plantes indigofères. C. R. 127. 769. (1898). *271. 281.*

247) Bredig, Anorganische Fermente. Habilit.-Schrift. Leipzig 1901. *19. 46.*

248) Bredig u. Müller, Ueber anorganische Fermente. I. Ueber Platinkatalyse u. die chemische Dynamik des Wasserstoffsuperoxyds. Z. f. physikal. Ch. 31. 258. 1899. *46.*

249) Brefeld, Ueber Gährung. III. Vorkommen u. Verbreitung der Alkoholgährung im Pflanzenreiche. Landwirtsch. Jb. 1876. 281. *313. 319. 320. 339.*

250/52) Brefeld, (Chem. Ber. 1874—76). Untersuchungen über Alkoholgährung (VII. 281). Bemerkungen zu der Mittheilung von M. Traube: „Ueb. d. Verhalten der Alkoholhefe in sauerstoffgasfreien Medien" (VII. 1067). Ueber einige Reagentien auf freien Sauerstoff u. ü. d. Bedeutung desselben für die Vermehrung der Hefezellen (VIII. 421). *330. 339.*

253) Brefeld, Verhdlg. Phys.-Med. Soc. Würzburg 1873. 163. *339.*

254) Breusing, Ueber das „stärkeumwandelnde" Ferment im menschlichen Harn. Virch. Arch. 107. 186 (1887). *237.*

255) Brieger u. Cohn, Untersuchungen über Tetanusgift. Z. f. Hyg. XV. 1 (1893). *61.*

256) *Briot, Études sur la présure. Thèse. Paris 1900. *184.*

257) Briot, Sur l'existence d'une substance, empêchant l'action de la présure. C. R. 128. 1359 (1899). *184.*

258) Brissemoret u. Jeanne, Ueber das Digitalisferment. Journ. Pharm. Chim. (6.) VIII. 481; cit. Chem. Cbl. 1899. I. 133. *367.*

259) Brode, Katalyse bei der Reaction zwischen Wasserstoffperoxyd und Jodwasserstoff. Z. f. physikal. Ch. 37. 257 (1901). *43. 50.*

260) Brodmeier, Ueber die Beziehung des Proteus vulgaris Hsr. zur ammoniakalischen Harnstoffzersetzung. C. f. Bact. XVIII. 380. (1895). *292.*

261) van den Broek, Untersuchungen über die geistige Gährung des Traubensafts und über die Fäulniss thierischer Substanzen im frischen Zustande; Versuche über das in der Atmosphäre enthaltene Agens, welches diese beiden Zersetzungen einleitet. Liebig's Ann. 115. 75 (1860). *325.*

262) A. Brown, Influence of Oxygen and Concentration on Alcoholic Fermentation. Journ. chem. Soc. 61. 369 (1892). *317. 335. 341.*

263) A. Brown, Enzyme Action. Journ. Chem. Soc. 1902. 373. *255.*

264) Brown, On the search for a cellulose-dissolving (cytohydrolytic) enzyme in the digestive tract of certain grain-feeding animals. Journ. Chem. Soc. 61. 352 (1892). *243.*

265) Brown and Glendinning, On the velocity of starch by diastase

with some remarks on enzyme action. Proc. chem. Soc. XVIII. 43. (1902). *57.*

266) Brown u. Heron, Beiträge zur Geschichte der Stärke und der Verwandlung derselben. Liebig's Ann. **199**. 165 (1880). *203. 208. 216.*

267) Brown u. Heron, Ueber die hydrolytischen Wirkungen des Pankreas und des Dünndarms. Liebig's Ann. **204**. 228. *232. 262.*

268) Brown u. Heron, Contributions to the history of starch and its transformations. Journ. Chem. Soc. **35**. 596 (1879). *212. 261.*

269/70) Brown u. Millar, Maltodextrin: its oxidation-products and constitution. The stable dextrin of starch transformations, and its relation to the maltodextrins and soluble starch. Journ. Chem. Soc. **75**. 286. 1315 (1899). *212. 213.*

271) Brown u. Millar, Attempts to prepare pure starch derivatives through their nitrates. Journ. Chem. Soc. **75**. 311 (1899). *213.*

272) Brown u. Morris, On the noncrystallisable products of the action of diastase upon starch. Journ. Chem. Soc. **47**. 527 (1885). *213.*

273/74) Brown u. Morris, The amylodextrin of W. Nägeli, and its relation to soluble starch (J. chem. Soc. **55**. 449). Nägeli's Amylodextrin und sein Verhältniss zur Stärke (Z. f. ges. Brw. 1889. 437). *213.*

275) Brown u. Morris, Researches on the germination of some of the Gramineae. Journ. Chem. Soc. **57**. 493 (1890). *220. 221. 239.*

276) Brown u. Morris, The determination of the molecular weights of the carbohydrates. Journ. Chem. Soc. **55**. 462. *216.*

277) Brown and Morris, Contribution to the chemistry and physiology of foliage leaves. Journ. Chem. Soc. **63**. 604 (1893). *82. 220.*

278) Brown and Morris, On the „Isomaltose" of C. J. Lintner. Journ. Chem. Soc. **67**. 709 (1895). *216.*

279) *Browne, Civil and natural history of Jamaica. 1756. *149.*

280) Brücke, Studien über die Kohlehydrate und über die Art, wie sie verdaut und aufgesaugt werden. Sitzber. d. Wiener Acad. Math.-Phys. Kl. 1872. III. 126. *211.*

281) Brücke, Vorlesg. üb. Physiologie. 1874. Bd. I. *94. 103.*

282) v. Brunn u. Ebstein, Experimentelle Beiträge zur Physiologie der Magendrüsen. Pflüg. Arch. III. 565. *97.*

283) Bruno, (Galle). Arch. d. sciences biol. St. Petersbourg VII. *122.*

284) Brunton and Macfadyen, The ferment-action of bacteria. Proc. Roy. Soc. **46**. 542 (1890). *155.*

285) Brunton u. Wyatt, Practitioner 1880. *151.*

286) Buchner, Ein Beitrag zur Lehre von der Einwirkung der Alkohols auf die Magenverdauung. Arch. f. klin. Med. **29**. 537. *40. 108.*

287) E. Buchner, Alkoholische Gährung ohne Hefezellen. Chem. Ber. **30**. 1110 (1897). *108.*

288) E. Buchner, Gährung ohne Hefe. In zahlreichen Arbeiten Chem. Ber. XXX—XXXV. *305.*

289) H. u. E. Buchner u. M. Hahn, Die Zymasegährung. München. 1903. *156. 304. 326. 341.*

290) E. Buchner u. Meisenheimer, Enzyme bei Spaltpilzgährungen. Chem. Ber. **36**. 634 (1903). *24. 75. 296.*

291) H. Buchner, Natürliche Schutzeinrichtungen des Organismus und deren Beeinflussung zum Zwecke der Abwehr von Infectionsprocessen. Münch. med. W. **1899**. 39. 40. *163.*

292) H. Buchner, Zur Kenntniss der Alexine, sowie der specifisch-bactericiden u. specifisch-hämo-

lytischen Wirkungen. Münch. med. Woch. **1900**. 277. *167. 170.*

293) H. Buchner u. Rapp, Beziehungen des Sauerstoffs zur Gährthätigkeit der lebenden Hefezellen. Z. f. Biol. **37**. 82 (1899). *341. 342.*

294) Büsgen, Aspergillus Oryzae. Ber. d. d. bot. Ges. III. 66 (1885). *223. 330.*

295) Bull, Ueber Emulsin und dessen Zusammensetzung. Ann. Chem. Pharm. **69**. 145 (1849). *274.*

296) Busse, Ueber parasitäre Zelleinschlüsse u. ihre Züchtung. C. f. Bact. XVI. 175 (1894). *331.*

297) Bussy, Untersuchungen über die Bildung des ätherischen Senföls. Liebig's Ann. **34**. 223 (1840). *271.*

298) Butkewitsch, Ueber das Vorkommen eines proteolytischen Enzyms im gekeimten Samen. Z. phys. Ch. **33**. 1 (1901). *149.*

299) Cagniard-Latour, Mémoire sur la fermentation vineuse. Ann. de Chim. u. Phys. (2.) **68**. 206 (1836). *322.*

300) Cahours, Recherches sur la respiration des fruits. I u. II. C. R. **58**. 495. 653 (1864). *319.*

301) Calmette, Contribution à l'étude des ferments de l'amidon. La levure chinoise. Ann. Pasteur VI. 604 (1892). *223. 331.*

302) Calmette, Contribution à l'étude des venins. Ann. Pasteur. IX. 225 (1895). *161.*

303) Cambier, (Harnstoffgährung). Ann. de Microgr.; cit. n. Koch's Jb. 1893. 285. *292.*

304/05) Camus, Formation de la lipase par le Penicillium glaucum. — Lipase dans les cultures d'Aspergillus niger. Soc. Biol. **49**. 192 (1897); **49**. 230 (1897). *289.*

306) Camus, Rech. expér. sur la sécretine. Journ. de physiol. u. pathol. IV. 998 (1902). *124.*

307) Camus et Gley, Action du sérum sanguin sur quelques ferments digestifs. Soc. Biol. **49**. 825 (1897). *43. 128.*

308) Camus et Gley, Persistance d'activité de la présure à des températures basses ou élevées. C. R. **125**. 256. *177.*

309) Canby, (Fleischfress. Pflanzen). Oesterr. botan. Ztsch. XIX. 77. *153.*

310) Canby, Oesterr. bot. Ztg. XXV. 287. *153.*

311) Carnot, Ferment oxydant de la salive et de quelques autres sécrétions. Soc. Biol. **48**. 552 (1896). *355.*

312) Carrière, Variations de la lipase à l'état normal et pathologique. Soc. Biol. **51**. 989 (1899). *286.*

313) Carrière, Toxines et digestion. Ann. Pasteur XIII. 435 (1899). *111.*

314) Carrière, Ferment soluble de la culture de bacilles de Koch. Soc. Biol. **53**. 320. (1901). *290.*

315) Cash, Ueber den Antheil des Magens u. des Pankreas an der Verdauung des Fettes. Du Bois' Arch. **1880**. 323. *287.*

316) Cavazzani, Sur le mécanisme de la transformation du glycogène du foie en glycose. Arch. ital. d. Biol. **28**. 91 (1898). *234.*

317) Cavazzani, Arch. ital. d. Biol. **32**. 350 (1899). *234.*

318) Cavazzani, Weiteres über die Cerebrospinalflüssigkeit. C. f. Phys. X. 145. *237.*

319) Cavazzani, Versuche über die Anwesenheit eines Oxydationsferments in der Cerebrospinalflüssigkeit. Cbl. f. Phys. XVI. Nr. 19. (1902). *353.*

320/1) Cazeneuve, Sur le ferment soluble oxydant de la casse des vins. Sur quelques propriétés du ferment de la casse des vins. C. R. **124**. 406. 781 (1897). *367.*

322) Cazeneuve et Livon, Nouvelles recherches sur la fermentation

ammoniacale de l'urine et la génération spontanée. C.R.85. 571. *291.*
323) Champenois, Études de hydrates de carbones de réserve. Thèse. Paris. 1902. *245.*
324) Chanoz et Doyon, Phénomène thermique pendant la coagulation du lait. Soc. Biol. 52. 451 (1900). *177.*
325) Chapeaux, Bull. Acad. belg. (3.) 26. 227 (1893). *101.*
326) Chapoteaut, Sur le suc gastrique. C. R. 94. 1722 (1882). *99.*
327) Charrin, Action des sucs digestifs sur les poisons microbiens. Arch. d. physiol. V. Sér. X. 67. *111.*
328) Charrin et Levaditi, Défense de l'organisme contre les propiétés des sécrétions glandulaires. Soc. Biol. 52. 83 (1900). *128.*
329) Chassevant et Richet, De l'influence des poisons minéraux sur la fermentation lactique. C. R. 117. 673 (1893). *298.*
330) Chassevant u. Richet, Des ferments solubles uréopoïétiques du foie. Soc. Biol. 49. 743 (1897). *358.*
331) Chepowalnikoff, Gazette clinique de Botkine 1900 (cit. Metschnikoff, L'immunité. S. 63). *129.*
332) Chittenden, Diastatische Wirkung des Speichels unter verschiedenen Bedingungen modificirt, quantitativ untersucht. Maly's Jb. XV. 256 (1885). *207.*
333/4) Chittenden, Einfluss verschiedener unorganischer u. Alkoloïdsalze auf die Wirkung der Pepsinchlorwasserstoffsäure. Einfluss einiger neuer Arzneimittel auf die amylolytische und proteolytische Thätigkeit. Maly's Jb. XV. 277; XX. 248. *108.*
335) Chittenden, cit. in Amer. Journ. of Med. Sciences 1893. 452. *151.*
336) Chittenden, On the proteolytic action of bromelin, the ferment of pineapple juice. Journ. of Physiol. XV. 249. *152. 187.*
337) Chittenden, Amer. Journ. of physiol. I. 634 (1898). *151.*
338) Chittenden u. Cummins, Der Einfluss verschiedener therapeutischer u. toxischer Substanzen auf die proteolytische Wirkung des Pankreasfermentes. Maly's Jb. 1885. 304. *126.*
339) Chittenden and Ely, Influence of peptones and certain inorganic salts on the diastatic action of saliva. Journ. of physiol. III. 327. *42. 227.*
340) Chittenden and Goodwin, Myosin-peptone. Journ. of Physiol. XII. 34 (1891). *114.*
341) Chittenden and Griswold, On the diastatic action of saliva. Amer. Chem. Journ. III. 305 (1882). *206. 226.*
342) Chittenden u. Hart, Elastin und Elastosen. Z. f. Biol. 25. 368 (1889). *119.*
343) Chittenden and Hartwell, Crystalline globuline and globuloses, or vitelloses. Journ. of Physiol. XI. 435 (1890). *113.*
344) Chittenden and Hartwell, The relative formation of proteoses and peptones in gastric digestion. Journ. of physiol. XII. 12 (1891). *116.*
345) Chittenden and Mendel, On the proteolysis of crystallized globulin. Journ. of Physiol. XVII. 48 (1895). *113.*
346/47) Chittenden and Painter, Studies from the Laboratory of Physiol. Chem. of Yale College. II. 1885/86. 156; III. 66. *117.*
348) Chittenden and Smith, On the primary cleavage products formed in the digestion of gluten-casein of wheat by pepsin-hydrochloric acid. Journ. of phys. XI. 410 (1890). *118.*
349) Chittenden u. Stewart, Einfluss einiger neuer Arzneimittel

[illegible] und proteo-
[illegible] Maly's Jb. XX.
[illegible] enzymes sont-
[illegible] Arch. d. phys-
[illegible] Sacchari-
[illegible] durch Pankreas-
[illegible]
[illegible] Produits de
[illegible] sucre par la
[illegible] C. R. 104. 1109
[illegible] produits
[illegible] levure de bière.
[illegible]
[illegible] Biol. d. Pflanzen.
[illegible] bei der
[illegible] entstehenden
[illegible]
[illegible] Einwirkung
[illegible] auf Essig-
[illegible] Z.
[illegible] der
[illegible] Virch.
[illegible] über Re-
[illegible] Z.
[illegible] des
[illegible] Z.
[illegible] Mitthei-
[illegible] Z. phys.
[illegible] Ver-
[illegible] Blute
[illegible] über die
[illegible] Blutes.
[illegible] Ueber
[illegible]

im Blute. Pflüger's Arch. 65. 473. *356.*

365) Colenbrander, Ueber die Zersetzung des Zuckers im Blute. Maly's Jb. 1892. 137. *360.*

366) Conn, Isolirung eines Labfermentes aus Bacterienculturen. C. f. Bact. XII. 223. *187.*

367) Connstein, Hoyer, Wartenberg, Ueber fermentative Fettspaltung. Chem. Ber. 35. 3988 (1902). *289.*

368) Conradi, Ueber die Beziehung der Autolyse zur Blutgerinnung. Hofmeister's Beitr. I. 136 (1901). *300.*

369) Cornu, (Oenoxydase). Journ. pharm. chim. (6.) X. 342 (1899). *366.*

370) Contejean, Sur les fonctions des cellules des glandes gastriques. Arch. de physiol. (5.) 4. 554. *98.*

371) Corvisart, Sur une fonction peu connue du Pancréas. Paris 1857/58. Z. f. ration. Med. (3.) VII. 119. *120.*

372) Cotte, Notes sur les diastases du Suberites Domuncula (Spongiaires). Soc. Biol. 53. 95 (1901). *86.*

373) Cotte, Sur la présence de la tyrosinase chez Suberites Domuncula. Soc. Biol. 55. 137 (1903). *86. 356.*

374) Courant, Reaction der Kuh- u. Frauenmilch. Diss. Breslau 1891. *180.*

375) Cremer, Ueber Glycogenbildung im Hefepresssaft. Chem. Ber. 32. 2062 (1899). *16. 53.*

376) Cripps, Bestimmung der diastatischen Kraft von Malzextract. Chem. Cbl. 1890. I. 324. *205.*

377) Croftan, Diastatische Fermente der Nebennieren. Pflüg. Arch. 90. 285 (1902). *237.*

378) Curtin, Contribution à l'étude de la saccharomycose humaine. Ann. Pasteur X. 449 (1896). *331.*

379) Czapek, Ueber die sogenannten Ligninreactionen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. XXVII. 141. (1899). *242.*

380) Dahl, Die Pankreasfermente bei Rinder- und Schafsföten. Diss. Dorpat. 1890. Cbl. f. Physiol. **1891**. 309. *87.*

381) Danilewsky, Ueber specifisch wirkende Körper des natürlichen und künstlichen pankreatischen Saftes. Virch. Arch. 25 (1862). 279. *120. 230.*

382) Darwin, Insectivorous Plants. 2. Aufl. 1875. *153. 186.*

383) Dastre, Transformations du lactose. Arch de physiol. (1890) 103. *265.*

384) Dastre, Soc. Biol. **47**. 414 (1895). *31. 34.*

385) Dastre, Solubilité et activité des ferments solubles. Arch. d. phys. (5.) VIII. 120 (1896). *31. 34. 124.*

386) Dastre, Analyse de l'action des ferments solubles en général. — Application au ferment coagulateur du sang. Soc. Biol. **49**. 469 (1897). *34. 36.*

387) Dastre, De la dialyse chloroformée etc. Soc. Biol. 53. 34 (1902). *235.*

388) Dastre et Floresco, Sur quelques effets généraux des ferments solubles sur le sang et sur l'organisme. Soc. Biol. **49**. 849 (1897). *122.*

389) Dastre et Stassano, Existence d'une kinase chez les parasites intestinaux. Soc. Biol. 55. 130 (1903). *93.*

390) Davidson u. Dietrich, (Pepsin-HCl.). Müller-Reichert's Arch. f. Physiol. **1860**. 690. *107. 109.*

391) Dean, Experimental studies on inulinase. Botanic. Gazette. 35. Jan. 1903. *244.*

392) Deetjen, Untersuchungen über die Bluttplättchen. Virch. Arch. **164**. 239 (1901). *192.*

393) Defresne, Études comparatives sur la ptyaline et la diastase. C. R. **89**. 1070. *226.*

394) Delbrück, Wochschr. f. Brauerei 1895. *332.*

395) Delbrück, Die Bedeutung der Enzyme im Hefeleben. Woch. f. Brauerei **1903**. No. 7. *289. 311.*

396) Delezenne, Recherches sur la coagul. du sang. Arch. de phys. IX. 333. *189.*

397) Delezenne, Préparation d'un plasma pur. Soc. Biol. **48**. 782 (1896). *189.*

398/400) Delezenne über Enterokinase. In zahlreichen Arbeiten (Soc Biol. 53—55). *129.*

401) Delezenne, Sur l'action kinasique du sérum sanguin. Soc. Biol. 55. 132 (1903). *93.*

402) Delezenne, Action du suc pancréatique et du suc intestinal sur les hématies. Soc. Biol. **55**. 171. (1903). *92. 130.*

403) Delezenne et Frouin, La sécrétion physiol. du pancréas. Soc. Biol. 54. 691 (1902). *130.*

404) Delezenne et Mouton, Sur la présence d'une kinase dans quelques champignons basidiomycètes. Soc. Biol. 55. 27 (1903). *131.*

405) Denigès, Sur l'oxydation manganique des acides citrique et malique. C. R. **130**. 32 (1900) *368.*

406) Detmer, Vergleichende Untersuchungen über den Einfluss verschiedener Substanzen auf Pflanzenzellen und auf Fermente der Pflanzen. Landw. Jb. X. 757 (1881). *207. 220.*

407) Detmer, Ueber den Einfluss der Reaction Amylum sowie Diastase enthaltender Flüssigkeiten auf den Verlauf des fermentativen Processes. Z. phys. Ch. VII. 1 (1882). *41. 205. 206. 209. 227.*

408) Devaux, Asphyxie spontanée et productions d'alcool dans les tissus profonds des tiges ligneuses poussant dans les conditions naturelles C. R. **128**. 1346 (1899). *319.*

[illegible] Dienert, Galactosegährung. C. R. 128. [illegible] (1899). 229.
[illegible] Dienert, Sur la sécrétion des diastases. C. R. 129. 64 (1899). 264. 265.
[illegible] Dienert, Sur la fermentation du galactose et sur l'accoutumance des levures à ce sucre. Ann. Pasteur XIV. 139 (1900). 315.
[illegible] Dietze, Einfluss von $Ba(OH)_2$ etc. auf die trypt. Verdg. Diss. Leipzig. 1900. [illegible]
[illegible] Dobereiner, Schweigger's Journ. f. Chem. VIII. 321. 371.
[illegible] Dobereiner, Vermischte chemische Erfahrungen über Platina, Gährungschemie etc. Schweigger's Journ. f. Chem. 54 (1828). 418. [illegible]
[illegible] Dobroslawin, Unters. anat.-physiol. Inst. Graz. 1870. 68. 232.
[illegible] Donath, Ueber den invertirenden Bestandtheil der Hefe. Chem. Ber. VIII. [illegible] (1875). 204. 251.
[illegible] Donders, Physiologie 1856. 97.
[illegible] Doyon et Morel, Rôle des éléments figurés du sang dans la [illegible]. Soc. Biol. 55 215 (1903).
[illegible] Materialien zu [illegible] Monographie des Inulins. [illegible] (1870). [illegible]
[illegible] Ueber einen neuen [illegible] und phosphorhaltigen [illegible] der Leber. J. f. pr. Ch. [illegible] (1886). 204.
[illegible] Abbau der Eiweiss- [illegible] Bois Arch. 1891. 248.
[illegible] Eine neue Reaction [illegible] (vorläufige [illegible] Ber. 23. 2454
[illegible] pouvoir [illegible] de l'urine des [illegible] (1890).
[illegible] ou zy- [illegible] animaux et des végétaux. C. R. 123. 653 (1896). 366.
425) Dubois-Reymond, Ergebnisse einer Untersuchung über die angeblich saure Reaction des Muskelfleisches. Berl. Acad. Sitzber. 1859. 288. 300.
426) Dubourg, Sur l'amylase de l'urine. Thèse. Paris 1889. 250.
427) *Dubrunfaut, Mém. sur la saccharification. Soc. d'Agricult. Paris. 1823. 202.
428) Dubrunfaut, Note sur la glucose. Ann. de chim. et phys. (3.) 21. 178 (1847). 215.
429) Dubrunfaut, Note sur la chaleur et le travail mécanique produits par la fermentation vineuse. C. R. 42. 945 (1856). 318.
430) Dubrunfaut, Ueber die Umwandlung des Stärkemehls in Zucker vermittelst des Malzes und über die Eigenschaften und industrielle Darstellung einer stickstoffhaltigen Substanz des Malzes, welche wirksamer als das Diastas ist. Dingler's polyt. Journ. 187. 491 (1868). 202. 204.
431) Dubrunfaut, Der active Bestandtheil des Malzes oder Maltin und Diastase. Z. gesammt. Brauw. 1880. 99. 202.
432 Dubrunfaut, cit. n. Quévenne. J. pr. Ch. XIV. 334. 251. 316.
433) Dubs, Der Einfluss des Chloroforms auf die künstliche Pepsinverdauung. Virch. Arch. 134. 519. 107.
434) Ducceschi, Ueber das Auftreten von Oxyphenylalanin. Hofm. Beitr. I. 339 (1901). 139.
435) Duclaux, Digestion des matières grasses et cellulosiques. C. R. 94. 976 (1882). 243.
436) Duclaux, Traité de Chimie biologique. III Bde. 222.
437) Duclaux, Sur les ferments des matières albuminoïdes. C. R. 91. 731. 187.

438) Duclaux, Fermentation alcoolique du sucre de lait. Ann. Pasteur I. 573 (1886). *329.*

439) Duclaux, Études sur l'action solaire (Ier mém.). Ann. Pasteur. X. 168 (1896) *312.*

440) Duclaux (Referat), La fermentation fractionée du sucre de canne avec des levures pures. (W. Hiepe.) Ann. Past. XI. (1897.) 348. *254. 311.*

441) Duclaux, Lois générales de l'action des diastases. Ann. Pasteur XII. 96 (1898). *255.*

442) Dumas, Recherches sur la fermentation alcoolique. Ann. Chim. et Phys. (5.) III. 57 (1874). *5. 317. 324.*

443) Dumas, Sur les ferments appartenant au groupe de la diastase. Compt. rend. 75. 295. *39.*

444) Dumas et Boullay, Mémoire sur les éthers composés. Ann. Chim. Phys. 37. 45 (1828). *250. 309.*

445) Dumont, Ueber die Wirkung des kohlenstoffsauren Gases auf das Obst. Tromsdorff's Journ. f. Pharm. III. (2.) 563 (1819). *319.*

446/47) Dunstan and Henry, Natur and origin of the poison of Lotus Arabicus. Proc. Roy. Soc. 67. 224 (1901); 68. 374 (1901). *283.*

448) Dupouy, Journ. Pharm. Chim. (6.) VIII. 551. *355.*

449) Dusquesnel, Bull. de Thérap. 87. 20. *202.*

450) Dzierzgowski u. Salasin, Ueber Ammoniakabspaltung bei der Einwirkung von Trypsin und Pepsin auf Eiweisskörper. Cbl. f. Physiol. XV. 249 (1901). *135.*

451) Eberle, Physiologie d. Verdauung auf natürl. u. künstl. Wege. Würzburg 1834. *94. 284.*

452) Ebstein, Beiträge zur Lehre vom Bau und den physiologischen Functionen der sogenannten Magenschleimdrüsen. Arch. f. mikr. An. VI. 515. *97.*

453/55) Ebstein u. Grützner, Ueber den Ort der Pepsinbildung im Magen. — Ueber die Pepsinbildung im Magen. — Ueber Bildung und Ausscheidung von Fermenten. Pflüg. Arch. VI. 1; VIII, 122. 617. XVI. 105. *97. 99. 105.*

456) Ebstein u. Schulze, Ueber die Einwirkung der Kohlensäure auf die diastatischen Fermente des Thierkörpers. Virch. Arch. 134. 475. *227.*

457) Edinger, Ueber die Schleimhaut des Fischdarmes, nebst Bemerkungen zur Phylogenese der Drüsen des Darmrohres. Arch. f. mikr. Anat. XIII. 651. *97.*

458) Edkins, The changes produced in caseïn by the action of pancreatic and rennet extracts. Journ. of physiol. XII. 193. *127.*

459) Edmunds, Notes on rennet and on the coagulation of milk. Journ. of Phys. XIX. 466 (1895). *174. 178. 183.*

460) Effront, Action des acides mineraux sur le ferment lactique. Bull. soc. chim. (3.) IV. 337. (1890). *299.*

461) Effront, Action de l'acide fluorhydrique sur la diastase. Bull. soc. chim. (3.) IV. 627 (1890). *207.*

462) Effront, Sur les conditions chimiques de l'action de la diastase. Bull. soc. chim. (3.) IX. 151 (1893). *336.*

463/66) Effront, Action des fluorures solubles sur la diastase. Influence de l'acide fluorhydrique et des fluorures sur l'activité de la levure. Influence de fluorures sur l'accroissement de la levure. Des conditions que doivent présenter les solutions fermentescibles pur que les fluorures y produisent un maximum d'effet. Bull. Soc. Chim. (3.) V. 149. 476. 731. VI. 786 (1891). *337.*

467/68) Effront, Sur la formation de l'acide succinique et de la glycé-

rine dans la fermentation alcoolique. — Accoutumance des ferments aux antiseptiques et influence de cette accoutumance sur leur travail chimique. C. R. **119**. 92. 169. (1894). *313*.

469/70) Effront, Sur les conditions chimiques de l'action des diastases. C. R. **115**. 1324 (1892). **120**. 1281 (1895). Bull. Soc. Chim. (3.) IX. 188 (1893). *207*.

471) Effront, Sur un nouvel enzyme hydrolytique. Compt. Rend. **125**. 116. (1897). *245*.

472) Effront-Bücheler, Die Diastasen. 1900. *207*.

473) Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus. Berlin 1885. *62*. *347*.

474) Ehrlich, Zur Kenntniss der Antitoxine. Fortschr. d. Med. 1897. 41. *161*.

475) Ehrlich, Werthbemessung des Diphtherieserums. Klin. Jb. VI. (1897). *62*. *185*.

476) Ehrlich u. Morgenroth, Ueber Hämolyse I—VI. Berlin. klin. Wochschr. 1899. 1900. *164*. *169*.

477) Ehrlich u. Sachs, Ueber die Vielheit der Complemente des Serums. Berl. klin. Wochschr. 1902. 14/15. *167*.

478) Eichhorst, Ueber die Resorption der Albuminate im Dickdarm. Pflüg. Arch. IV. 584. *232*.

479) Eichhorst, Ueber das Vorkommen von Zucker und zuckerbildenden Substanzen in pleuritischen Exsudaten. Z. f. klin. Med. III. 537 (1881). *237*.

480) Eijkman, Ueber Enzyme bei Bacterien u. Schimmelpilzen. C. f. Bact. **29**. 841 (1901). *224*.

481) *Ellenberger u. Hofmeister, Arch. f. wiss. Thierheilkde. VIII. *236*.

482) *Ellenberger u. Hofmeister, Arch. f. wiss. Thierheilkunde XII. 265 (1881). *229*.

483) Ellinger, Bildung von Putrescin (Tetramethylendiamin) aus Ornithin. Chem. Ber. **31**. 3183 (1898). *138*.

484) Ellinger, Die Constitution des Ornithins u. Lysins. Z. phys. Ch. **29**. 324 (1900). *137*. *138*.

485) Embden u. Knoop, Ueber das Verhalten der Albumosen in der Darmwand. Hofm. Beitr. III. 120 (1902) *132*.

486) Emerson, Ueber das Auftreten von Oxyphenylalanin. Hofm. Beitr. I. 501 (1901). *140*.

487) Emerson, Der Einfluss des Carcinoms auf die gastrischen Verdauungsvorgänge. Arch. f. klin. Med. **72**. 415. *110*. *145*.

488) Emmerich u. Loew, Bacteriolytische Enzyme als Ursache der erworbenen Immunität und die Heilung von Infectionskrankheiten durch dieselben. Z. f. Hygiene. **1899**. 1. *158*.

489) Emmerling, Zur Kenntniss des Sorbosebacteriums. Chem. Ber. **32**. 541 (1899). *374*.

490) Emmerling, Das Verhalten von Glycerinaldehyd und Dioxyaceton gegen Hefe. Chem. Ber. **32**. 542 (1899) *315*.

491) Emmerling, Synthet. Wirkg. d. Hefemaltase. Chem. Ber. **34**. 600 (1901). *52*.

492) Emmerling, Synthetische Wirkung der Hefenmaltase. Chem. Ber. **34**. 3810 (1901). *53*.

493) Emmerling, Die Einwirkung des Sonnenlichts auf die Enzyme. Chem. Ber. **34**. 3811 (1901). *37*.

494) Emmerling, Ueber die Eiweissspaltung des Papayotins. Chem. Ber. **35**. 695 (1902). *151*.

495) Emmerling, Die Zersetzung stickstofffreier Substanzen. Braunschweig 1902. *24*. *295*. *298*. *371*.

496) Emmerling u. Reiser, Zur Kenntniss eiweissspaltender Bac-

terien. Chem. Ber. 35. 700 (1902). *156.*
497) Engler u. Wöhler, Pseudokatalytische Sauerstoffübertragung. Z. f. anorg. Ch. 29. 1 (1902). *351.*
498) Erlenmeyer, Ueber die Fermente in den Bienen, im Bienenbrot, im Pollen und einige Bestandtheile des Honigs. Münch. akad. Sitzber. Math.-Naturw. Kl. **1874**. 205. *219. 233. 262.*
499) Erlenmeyer, Ueber die Darstellung der ungeformten Fermente. Sitzb. Münch. Acad. **1875**. 82. *176.*
500) Erlenmeyer u. Lipp, Ueber künstliches Tyrosin. Chem. Ber. XV. 1544 (1882). *139.*
501) Erlenmeyer jun., Ueber eine neue Synthese des Serins. Chem. Ber. 35. 3769 (1902). *137.*
502) Ernst, Ueber die Katalyse des Knallgases durch colloidales Platin. Z. physikal. Ch. **37**. 448 (1901). *49.*
503) Erxleben, cit. n. Buchner. 2. *322.*
504) Escherich, Ueber Sputumferment. Arch. f. klin. Med. **37**. 196 (1885). *122.*
505) Etzinger, Ueber die Verdaulichkeit der leimgebenden Gewebe. Z. f. Biol. X. 84. *119.*
506) Eugling, Studium über das Caseïn in der Kuhmilch und über die Labfermentwirkung. Landw. Versuchsst. **31**. 391 (1885). *180.*
507) Euler, Zur Theorie katalytischer Reactionen. Z. physikal. Ch. **36**. 641 (1901). *51.*
508) Eves, Some experiments on the liver ferment. Journ. of Physiol. V. 342. *342.*
509) Ewald, Weitere Beiträge zur Lehre von der Verdauung. Z. klin. Med. I. 615. *126.*

510) Fabini u. Fiori, Moleschott's Unters. XII. 462 cit. bei Buchner, Z. f. Biol. **40**. 145. *108.*
511) Falk, Ueber die Einwirkung von Verdauungssäften auf Fermente. Du Bois' Arch. f. Physiol. **1882**. 187. *254.*
512) Fauré, Sur les semences de moutarde noire (Sinapis nigra). Journ. de Pharm. XVII. 299. *277.*
513) Fermi, Die Leim u. Fibrin lösenden u. die diastatischen Fermente der Microorganismen. Arch. f. Hyg. X, 1. (1890). *124.*
514) Fermi, Die Gelatine als Reagens zum Nachweise der Gegenwart des Trypsins und ähnlicher Enzyme. Maly's Jb. 592 (1892). *121. 142.*
515) Fermi, L'action des zymases protéolytiques sur la cellule vivante. Arch. Ital. d. Biol. **1895**. 433 *92.*
516) Fermi, Ueber die vermuthliche Toxicität der Enzyme. — Maly's Jb. **1897**. 906. *68.*
517) Fermi, Beitrag zum Studium der von den Microorganismen abgesonderten diastatischen und Inversionsfermente. Cbl. f. Bacter. XII. 713. *222. 224. 261.*
518) Fermi, Die Leimgelatine als Reagens zum Nachweis tryptischer Enzyme. Arch. f. Hyg. XII. 240. *68.*
519) Fermi, Weitere Untersuchungen über die tryptischen Enzyme der Microorganismen. Arch. f. Hyg. XIV. 1. *155.*
520) Fermi u. Buscaglioni, Die proteolytischen Enzyme im Pflanzenreich. C. f. Bact. (2.) V. 125 (1899). *148.*
521) Fermi u. Montisano, Apoth.-Ztg. **1894**. 583. *83. 271. 273.*
522/23) Fermi u. Montisano, Die von den Microben bedingte Inversion des Rohrzuckers (I. u. II.) C. f. Bact. (2.) I. 482. 542 (1895). *261.*
524) Fermi u. Pampersi, Ueber die angebliche Ueberführung der Eiweisse in Peptone durch Microorganismen. Il Policlinico **1897**. No. 8. Maly's Jb. **1897**. 827. *155.*

525) Fermi u. Pernossi, Ueber die Enzyme. Z. f. Hyg. XVIII. 83. *32. 34. 38. 103. 109. 125. 127. 262.*

526) Fermi u. Pernossi, Wirkung einiger Gase auf Enzyme. Z. f. Hyg. XVIII. 92 (1894). *43.*

527) Fermi u. Repetto, Beitr. z. Verbr. d. proteolyt. Fermente im Thierreich. Cbl. f. Bacter. **31.** 403 (1902). *83. 101.*

528) Fernbach, Sur le dosage de la sucrase. Ann. Pasteur IV. 1 (1890). *85. 260.*

529) Fernbach, Tannase. C. R. **131.** 1214 (1900). *282.*

530) Fernbach u. Hubert, Sur la diastase protéolytique du malt. C. R. **130.** 1783 (1900). *148.*

531) Fernbach u. Hubert, De l'influence des phosphates s. l. diast. proteolyt. du malt. C. R. **131.** 293 (1901). *149.*

532) A. Fick, Ueb. d. Magenferment kaltblütiger Thiere. Verhdlg. d. Würzburger Phys.-Med. **1873.** 121. *97. 98. 103. 110.*

533) A. Fick, Ueber die Wirkungsart der Gerinnungsfermente. Pflüg. Arch. **45.** 293 (1889). *25.*

534) Fiechter, Wirkg. d. Blaus. auf Fermente. Diss. Basel 1875. *10.* [illegible] *377.*

535) Filehne, (F. in Sputum) Sitzber. d. Erlanger Phys. med. Soc. **1877.** 160. [illegible]

536) Finckler, Ueber d. Isopepsin. Pflüg. Arch. XIV. 128 (1877). *98.*

537) E. Fischer, Synthesen in der Zuckergruppe. Chem. Ber. **23.** 2137 (1890). *314.*

538) E. Fischer, Synthese einer neuen Glucobiose. Chem. Ber. **23.** 3687 (1890). *216.*

539) E. Fischer, Ueber den Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme. Chem. Ber. **28.** 1433 (1895). *97. 204. 280.*

540) E. Fischer, Ueber ein neues dem Amygdalin ähnliches Glucosid. Chem. Ber. **28.** 1508 (1895). *268. 274.*

541) E. Fischer, Bedeutung der Stereochemie für die Physiologie. Z. phys. Ch. **26.** 61. *39. 59. 216. 248. 252. 263. 264. 265. 267. 275.*

542) E. Fischer, Ueber die Spaltung einiger racemischer Amidosäuren in die optisch-activen Componenten. Chem. Ber. **32.** 2451 (1899). *136. 139.*

543) E. Fischer, Spaltung racemischer Aminosäuren in die optisch-activen Componenten. Chem. Ber. **33.** 2370 (1900). *136.*

544) E. Fischer, Synthese der α, δ-Diaminovaleriansäure. Chem. Ber. **34.** 454 (1901). *138.*

545) E. Fischer, Ueber die Hydrolyse des Caseïns durch Salzsäure. Z. phys. Ch. **33.** 151. 412 (1901). *117. 139.*

546) E. Fischer u. Armstrong, Darstellung der Osone aus den Osazonen der Zucker. Chem. Ber. **35.** 3141 (1902). *61. 269.*

547) E. Fischer u. Armstrong, Synthese einiger neuerer Disaccharide. Chem. Ber. **35.** 3144 (1902). *61. 33. 265.*

548) Fischer u. Bergell, Ueb. Polypeptide. Vorl. Mitthl. a. d. Karlsbader Naturf.-Vers. Septbr. **1902.** *134.*

549) E. Fischer u. Leuchs, Synthese des Serins. Chem. Ber. **35.** 3787 (1902). *137.*

550) E. Fischer u. Lindner, Ueber die Enzyme einiger Hefen. (Chem. Ber. **28.** 3034). *248. 260. 263.*

551) E. Fischer u. Niebel, Ueber das Verhalten der Polysaccharide geg. einige thierische Secrete und Organe. Sitzb. Berlin. Acad. **1896.** V. 73. *236. 250. 262.*

552) E. Fischer u. Skita, Ueber d. Fibroin der Seide. Z. phys. Ch. **33.** 177 (1901). *135.*

553) E. Fischer u. Weigert, Synthese der $\alpha\varepsilon$-Diaminocapronsäure. Chem. Ber. **35.** 3772 (1902). *137.*

554) H. Fischer, Ein Beitrag zur Lehre von der alkalischen Harngährung. Berl. klin. Woch. **1864.** 18. *290.*

555/56) Fitz, Alkoholische Gährung durch Mucor mucedo. I und II. Chem. Ber. VI. 48 (1873); IX. 1352 (1876). *252. 330.*

557) Fitz, Alkoholische Gährung durch Mucor racemosus .Chem. Ber. VIII. 1540 (1875). *333.*

558) Fleury, Recherches chimiques sur la germination. Ann. de. Chim. (4.) IV. 38 (1865). *288.*

559) Floresco, Pouvoirs zymotiques comparatifs du pancréas de boeuf, chien, mouton et porc, par rapport à la gélatine. Soc. Biol. **48.** 77. 890 (1896). *127. 231.*

560) Flügge, Die Microorganismen. (1896.) *155. 243. 292. 299. 312. 334. 338.*

561) Fokker, Ueber ein durch Cholerabacillen gebildetes Enzym. Dtsch. med. Wchschr. **1892.** 1151. *187.*

562) Foth, Einfluss der Kohlensäure auf Gährung und Hefebildung. C. f. Bact. I. 502 (1885). *337.*

563) Foth, Ueber den Einfluss der Kohlensäure auf das Wachsthum und die Gährthätigkeit der Hefe und ihre Bedeutung für die Conservirung des Bieres. Z. ges. Brauw. **1889.** 182. *337.*

564/65) Fourcroy et Vauquelin, Pour servir à l'histoire naturelle chimique et médicale de l'urine humaine, contenant quelques faits nouveaux sur son altération spontanée. — Notes historiques sur la distinction de la matière particulière à l'urine. — Traitement de l'urée par les acides. Ann. de chim. **31.** 48; **32.** 80. 113. *290.*

567) Fränkel, Beiträge zur Physiologie der Magendrüsen. Pflüg. Arch. **48.** 63. *98.*

568) Fränkel, Darstellung und Constitution des Histidins. Sitzb. Wien. Acad. 112. II b März 1903. *375.*

569) Frankfurt, Zur Kenntniss der chemischen Zusammensetzung des ruhenden Keimes von Triticum vulgare. Landwirthsch. Versuchsstat. **47.** 406 (1896). *148.*

570) Frankhause, (Keimg. d. Gerste) cit. n. Green., Ann. of botan. VII *222.*

571) Frankland and Mac Gregor, Sarcolactic acid obtained by the fermentation of inactive lactic acid. Journ. Chem. Soc. **68.** 1028 (1893). *297.*

572) Fraser, On the action of infused beverages on peptic and pancreatic digestion. Journ. of anat. and phys. **31.** 469. *108.*

573) Frémy, Recherches sur la pectine et l'acide pectique. Journ. de pharm. **26.** 392. *197.*

574) Frerichs, Verdauung. III. *94.*

575) Freudenreich, Beitrag zur Kenntniss des Labferments. C. f. Bact. (2.) IV. 309 (1898). *183.*

576) *Freudenreich, (Galactase). Milchztg. **29.** 245 (1900). *142.*

577) Friedberger, Ueb. d. Pepsingehalt d. Harns. Diss. Giessen 1890. *102.*

578) Friedenthal, Beitr. z. Kenntn. der Fermente. Arch. f. An. und Physiol. Phys. Abth. **1900.** 181. *95.*

579) Friedenthal und Mijamota, Ueb. d. chem. Natur d. Pepsins. Cbl. f. Phys. XV. 785 (1901). *95.*

580) Friedinger, (Pepsin). Sitzb. d. Acad. d. Wissch. Wien **1871.** 325. *97.*

581) Friedmann, Ueber die Constitution des Cysteins. Hofm. Beitrg. III. 1 (1902). *141.*

582) Fubini, Arch. ital. de Biol. XIV 436 (1891). *272.*

583) Fuld, Ueb. d. Zeitgesetz d. Labung. Hofmeister's Beitr. II. 196 (1902). *56.*

584) Fuld, Ueber die Milchgerinnung durch Lab. Hofmeister's Beitr. II. 170 (1902). *182.*

585) Fuld, Ueber das Zeitgesetz des Fibrinferments. Hofm. Beitr. II. 514 (1902). *56. 188. 191.*

586) Fuld, Ueb. Milchgerinnung durch Lab. Asher-Spiro, Ergebn. der Physiol. (1.) I. 468 (1902). *174.*

587) Fuld, Einige neue Arbeiten über das Fibrinferment. Biochem. Cbl. I. Heft 4 (1903). *192. 193.*

588) Fuld u. Spiro, Ueber die labende und labhemmende Function des Blutes. Z. phys. Ch. **31.** 132 (1900). *184.*

589) v. Fürth u. Schneider, Ueber thierische Tyrosinasen. Hofm. Beitr. I. 229 (1901). *355.*

590) Gadamer, Les glycosides des moutardes noire et blanche. Journ. de pharm. (6.) IV. 462 (1896). *278.*

591 92) Gadamer, Ueber die Bestandtheile des schwarzen u. des weissen Senfsamens. — Ueber den Ursprung des Allylsenföls aus der Wurzel von Cochlearia Armoracia. Arch. f. Pharm. **235.** 44. 577 (1897). *278.*

593) Gamgee, Physiol. Chemie d. Verdauung. Leipzig und Wien 1897. *93. 119. 135. 139. 285.*

594) Gans, Ueber den Einfluss von Salzlösungen auf die Umbildungsgeschwindigkeit des Glykogens in Zucker. Verhdlg. Congr. f. innere Med. 1896. 449. *207. 231. 238.*

595) Gaube, (F. im Schweiss). Soc. Biol. **43.** 115 (1891). *86.*

596) Gay-Lussac, Sur la fermentation. Ann. d. Chim. **76.** 247 (1810). *4.*

597) Gay-Lussac, Sur l'analyse de l'alcool et de l'éther sulfurique, et sur les produits de la fermentation. Ann. de Chim. **95.** 311 (1815). *309.*

598) Gay-Lussac et Pelouze, Sur l'acide lactique. Ann. Chim. phys. **52.** 410 (1833). *295.*

599) Gayon, Sur l'inversion et sur la fermentation alcoolique du sucre de canne par les moisissures. C. R. **86.** 52 (1878). *260.*

600) Gayon, (Trypsin im Ei) cit. n. Schützenberger. Thèse. Paris 1875. 199. *122.*

601) Gayon et Dubourg, De la fermentation de la dextrine par le mucor. Ann. Past. I. 532 (1886). *222.*

602) Gayon et Dubourg, (Mucorgährg). C. R. **98.** *330.*

603) Gayon et Dubourg, Sur la fermentation alcoolique du sucre interverti. C. R. **110.** 865 (1890). *317. 329. 330. 352.*

604) Géduld, Ueber ein neues Enzym: Die Glucase. Wochschr. f. Brauerei. VIII. 545 (1891). *247.*

605) Gehrig, Ueber Fermente im Harn. Pflüg. Arch. **38.** 35. *69. 102. 122. 237.*

606) Gengou, Sur les sensibilisatrices de sérums actifs. Ann. Pasteur XVI. Oct. 1902. *172.*

607) Gérard, Soc. Biol. **45.** 651 (1893). *271.*

608) Gérard, Sur le dédoublement de l'amygdaline. Journ. Pharm. Chim. (6.) III. 233 (1896). *271. 272.*

609) Gérard, Dédoublement de l'amygdaline. Soc. Biol. **48.** 44 (1896). *272.*

610) Gérard, Fermentation de l'acide urique par les microorganismes. Soc. Biol. **48.** 516 (1896). *293.*

611) Gérard, Sur une lipase végétable extraite du Penicillium glaucum. C. R. 124. 370 (1897). *275. 289.*
612) Gérard, Sur le dédoublement des glucosides par l'éxtrait aqueux d'organes animaux. Soc. Biol. 53. 99 (1901). *272.*
613) Geret u. Hahn, Weitere Mittheilungen über das im Hefepresssaft enthaltene proteolytische Enzym. Chem. Ber. 31. 2335 (1898). *158.*
614) v. Gerlach, Die Peptone. 1891. *119.*
615) Gerson, De Chymificatione arteficiosa. Diss. Berlin 1839. *94.*
616) Gessard, Études sur la tyrosinase. Ann. Pasteur XV. 593 (1901). *366.*
617) Gessard, Tyrosinase animale. Soc. Biol. 54. 1304 (1902). *355. 366.*
618) Gessard, Antilaccase. Soc. Biol. 55. 227 (1903). *365.*
619) Giard, Ferment bleuissant la teinture alcoolique de gayac. Existence de ce ferment chez certains animaux. Soc. Biol. 48. 483 (1896). *354.*
620) Mac Gillawry, Sur la digestion artificielle de la cellulose. Archives néerland. XI. 394 (1876). *243.*
621) Gillet, Le ferment oxyd. du lait. Journ. de phys. et pathol. IV. 439 (1902). *356.*
622) Giltay u. Aberson, Ueber den Einfluss des Sauerstoffzutritts auf Alkohol- und Kohlensäurebildung bei der alkoholischen Gährung. Pringsheim's Jb. 26. 543 (1894). *340.*
623) Aimé Girard, Mémoire sur la composition chimique et la valeur alimentaire des diverses parties du grain de froment. Ann. de Phys. et Chim. (6.) III. 289 (1884). *221.*
624) Giunti, Ueber die Wirkung des Lichts auf die Essiggährung. Le stazioni speriment. agrar. ital. 18. 171. (Maly's Jb. XX. 439 [1890]). *373.*
625) Glaessner, Ueber d. Vorstufen d. Magenfermente. Hofm. Beitr. I. 1 (1901). *100. 175.*
626) Glaessner, Ueber d. örtliche Verbreitung d. Profermente in d. Magenschleimhaut. Hofmeister's Beitr. I. 24 (1901). *98. 117.*
627) Glaessner, Ueber d. Function d. Brunner'schen Drüsen. Hofm. Beitr. I. 105 (1901). *101.*
628) Glaessner, Umwandlung der Albumosen durch die Magenschleimhaut. Hofmeister's Beitr. I. 328 (1901). *158.*
629) Glaessner u. Langstein, Zur Kenntniss der Entstehung der Kynurensäure. Hofm. Beitr. I. 34 (1901). *141.*
630) Gley, Influence de la peptone sur la coagulation du lait par la présure. Soc. Biol. 48. 591 (1896). *183.*
631) Gley et Bourquelot, (Maltase im Blut). Soc. Biol. 47. 247 (1895). *250.*
632) B. Gmelin, Beitrag zur Kenntniss des Leucins. Diss. Tübingen 1892. *135.*
633) Gmelin, Handbuch der theoret. Chemie. 1892. *319.*
634) Gmelin, Untersuchungen über die Magenverdauung neugeborener Hunde. Pflüg. Arch. 90. 591 (1902). *99. 174.*
635) Godlewski u. Polzeniusz, (Alkohol in Pflanzen). Acad. Cracovie. 1901. 227, cit. n. Buchner. *319.*
636) Goebel, Pflanzenbiol. Schilderungen. II. 1893. *154.*
637) Goldschmidt, Ueber das Speichelferment der Parotis des Pferdes. Z. phys. Ch. X. 273. *232.*
638) Gonnermann, Ein diastatisches Ferment in der Zuckerrübe (Beta vulgaris var.) Chemiker-Ztg. 1895. 1806. *219.*

639) Gonnermann, Homogentisinsäure, die farbebedingende Substanz dunkler Rübensäfte. Pflüg. Arch. **82**. 289 (1900). *365*.

640) Gonnermann, Ueber die Verseifbarkeit einiger Säureamide. Apoth.-Ztg. 1902. *132*.

641) Goret, Étude de quelques albumens cornés. Thèse. Paris 1901. *245*.

642) Gorini, (Lab in Choleravibrionen). Hyg. Rdsch. 1893. 381. *187*.

643) v. Gorup-Besanez, Leucin neben Asparagin in dem frischen Safte der Wickenkeime. Chem. Ber. VII. 146 (1874). *147*.

644) v. Gorup-Besanez, Weitere Mittheilungen über das Auftreten von Leucin neben Asparagin während des Keimprocesses der Wicken. Chem. Ber. VII. 569. *147*.

645/46) v. Gorup-Besanez, Ueber das Vorkommen eines diastatischen und peptonbildenden Ferments in den Wickensamen. — Weitere Beobachtungen über diastatische u. peptonbildende Fermente im Pflanzenreiche. Chem. Ber. VII. 1478; VIII. 1510. *147*. *219*.

647) v. Gorup-Besanez, Fortgesetzte Beobachtungen über peptonbildende Fermente im Pflanzenreich. Chem. Ber. IX. 673 (1876). *153*.

648) Gottlieb, Versuche über Harnstoffbildung in der Leber. Münch. med. Woch. **1895**. 547. *358*.

649) Gouirand, Sur la présence d'une diastase dans les vins cassés. C. R. **120**. 887 (1895). *367*.

650) Goyand, Sur la fermentation pectique. C. R. **135**. 537 (1902). *197*.

651) *Gran, Studien über Meeresbacterien. Bergen's Museum. Aarborg 1902. No. 2. *246*.

652) Green, Philos. Transact. Royal Soc. **178** (1887). 39. *147*.

653) Green, Philos. Transact. **188**. 167 (1897). *57*. *209*.

654) Green, On the germination of the tuber of the Jerusalem Artichoke (Helianthus tuberosus) Ann. of botany. I. 223. *244*.

655) Green, (Papaïn). Ann. of Botany. VI. 1892. 195. *152*.

656) Green, On vegetable ferments. Annals of botany. VII. 93 (1893). *10*. *186*. *239*. *243*. *262*.

657) Green, On the germination of the Seed of Castor-Oil Plant. Proc. Royal Soc. **48**. 370. *148*. *187*. *288*.

658) Green, Die Enzyme. Uebers. v. Windisch. Berlin 1900. *10*. *239*.

659) Greg, Fermentation in rum destilleries. Cbl. f. Bact. XV. 46 (1894). *332*.

660) Griffiths, Further researches on the physiology of the invertebrata. Proc. Roy. Soc. **44**. 325 (1888). *101*.

661) Grimbert, Action du pneumobacille de Friedländer sur la xylose et l'arabinose. Soc. Biol. **48**. 191 (1896). *21*.

662) Grober, Ueber die Wirksamkeit der Spinalpunction u. das Verhalten der Spinalflüssigkeit bei chronischem Hydrocephalus. Münch. med. Woch. **1900**. 245. *237*.

663) Grote, Klinische Erfahrungen über die Wirkung des Papains bei Magenkrankeiten. Deutsche med. Woch. **1896**. 474. *152*.

664) Gruner, Biol. Unters. an Schaumcicaden. Diss. Berlin 1901. *233*.

665) Grünert, Die fermentative Wirkung des Dünndarmsaftes. Diss. Dorpat 1890. Cbl. f. Physiol. V. 285. *232*. *261*.

666) Grünhagen, Neue Methode, die Wirkung des Magen-Pepsins zu veranschaulichen und zu messen. Pflüg. Arch. V. 203. *105*.

667) Grüss, Ueber das Verhalten des diastatischen Enzyms in der Keimpflanze. Jahrb. f. wiss. Botanik. **26**. 379. *203*. *204*. *220*.

668) Grüss, Ber. d. botan. Ges. XII. 1894. Sitzber. 60. *241.*

669) Grüss, Die Rohrzuckerbildung aus Dextrose in der Zelle. Ber. d. dtsch. botan. Ges. XII. 17 (1898). *369.*

670) Grüss, Beitrag zur Enzymologie. Festschr. f. Schwendener. Berlin 1899. 184. *222. 241. 369.*

671) Grützner, Ueber den Fermentgehalt des normalen menschlichen Harns. Breslauer ärztl. Ztschr. 1882. Nr. 17. *102.*

672) Grützner, Ueber eine neue Methode, Pepsinmengen colorimetrisch zu bestimmen. Pflüg. Arch. VIII. 452. *105.*

673) Grützner, Notiz über einige ungeformte Fermente des Säugethierorganismus. Pflüg. Arch. XII. 285. *101. 107. 229. 230. 232. 285.*

674) Grützner, Ueber Bildung und Ausscheidung von Fermenten. Pflüg. Arch. XVI. 118 (1878). *174. 175. 229.*

675) Grützner u. Wachsmann, Ueber die Einwirkung verschiedener chemischer Stoffe auf das diastatische Pankreasferment. Pflüg. Arch. **91**. 195 (1902). *231.*

676) Guerrin-Varry, Mémoire sur deux produits naturels de la végétation considérés comme des gommes. Ann. Chim. Phys. (2.) **56**. 225. *215.*

677) *Guiard, Étude sur la transform. ammon. des urines. Thèse. Paris. 1883. *291.*

678/79) Guignard, Sur la localisation dans les amandes et le laurier-cerise des principes qui fournissent l'acide cyanhydrique I u. II. Journ. de botan. IV. 3. 19 (1890). *272. 274.*

680) Guignard, Recherches sur la localisation des principes actifs des crucifères. Journ. de botan. **1890**. 385. *279.*

681) Gulewitsch, Ueber das Arginin. — Nachtrag dazu. Z. phys. Ch. **27**. 178. 368. *139.*

682) Gulewitsch, Ueber das Verhalten des Trypsins gegen einfachere chemische Verbindungen. Z. phys. Ch. **27**. 544 (1899). *121. 132.*

683) Gulewitsch u. Jochelsohn, Ueber das Vorkommen von Arginin in der Milz. Z. phys. Ch. **30**. 533 (1900). *358.*

684) Gumilewski, Ueber Resorption im Dünndarm. Pflüg. Arch. **39**. 564. *232.*

685) Gunning, Einfluss der Hefe auf Zuckerlösung. Chem. Ber. V. 821 (1872). *251.*

686) Gürber, (HCl im Magensaft). Vhdlg. Würzbg. Phys. med. Ges. 1895. 67. *110.*

687) **H**aacke, Zersetzung des Milchzuckers durch Bac. acidi lact. Arch. f. Hyg. **42**. 16 (1902). *298.*

688) Haberlandt, Die Kleberschicht des Gras-Endosperms als Diastase ausscheidendes Drüsengewebe. Ber. d. d. botan. Ges. VIII. 40. *221.*

689) Hahn, Zur Kenntniss der Wirkungen des extravasculären Blutes. Berl. klin. Woch. **1897**. 499. *43. 346. 360. 361.*

690) Hahn u. Geret, Ueber das Hefeendotrypsin. Z. f. Biol. **40**. 117 (1900). *156.*

691) Halliburton and Brodie, Action of pancreatic juice on milk. Journ. of Phys. XX. 97. *127.*

692) Hamburger, Vergleichende Untersuchung über die Einwirkung des Speichels, des Pankreas- und Darmsaftes, sowie des Blutes auf Stärkekleister. Pflüg. Arch. **60**. 560. *226. 230. 231. 232. 236. 247. 249.*

693) Hamburger et Hekma, Sur le suc intestinal de l'homme. Journ. de phys. et path. IV. 805 (1902). *130. 132.*

694) Hammarsten, Ueber die Indiffusibilität des Pepsins. Maly's Jb. III. 160. *103.*

695) Hammarsten, Smärre bidrag til kännedomen om spottens verkan på stärkelse. Upsala läkaref. förh. Bd. 6. p. 471. Virchow-Hirsch Jb. 1871. 95. *228.*

696/98) Hammarsten, Maly's Jb.: Ueber die Milchgerinnung u. die dabei wirkenden Fermente der Magenschleimhaut. (1872. 118). Ueber den chemischen Verlauf bei der Gerinnung des Caseïns mit Lab (1874. 135). Zur Kenntnis des Caseïns u. der Wirkung des Labfermentes (1877. 158). *173.*

699) Hammarsten, Ueber das Paraglobulin. Pflüg. Arch. XVIII. 38 (1878). 89. *190.*

700) Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chemie (1895). *121. 175. 230.*

701) Hammarsten, Ueber das Verhalten des Paracaseïns zu dem Labenzym. Z. phys. Ch. **22.** 130 (1896/97.) *178.*

702) Hammarsten, Ueber die Bedeutung der löslichen Kalksalze für die Faserstoffgerinnung. Z. phys. Ch. **22.** 333 (1896/1897). *189.*

703) Hammarsten, Weitere Beiträge zur Kenntniss der Fibrinbildung. Z. phys. Ch. **28.** 98 (1899). *194. 195.*

704) Hankin et Wesbroek, Sur les albumoses et les toxalbumines sécrétées par le bacille charbonneux. Ann. Pasteur. VI. 633 (1892). *124. 155.*

705) Hanriot, Sur un nouveau ferment du sang. Soc. Biol. **48.** 925 (1896). *286.*

706) Hanriot, Sur un nouveau ferment du sang. C. R. **123.** 753 (1896). *284.*

707) Hanriot, Sur la non-identité des lipases d'origine différente. C. R. **124.** 778 (1897). *286.*

708) Hanriot, Sur le mécanisme des actions diastasiques. Soc. Biol. **53.** 67 (1901). *63.*

709) Hanriot, Sur la réversibilité des actions diastasiques. Soc. Biol. **53.** 70 (1901). *288.*

710) Hanriot, Sur la nature de la lipase. Soc. Biol. **53.** 367 (1901). *285.*

711) Hanriot et Camus, Sur le dosage de la lipase. **124.** 235 (1897). *286.*

712) Hansen, Arbeiten aus dem botanischen Institut Würzburg. III. *8. 82. 148. 152. 153. 219.*

713) Hansen, Untersuchungen über die Physiologie und Morphologie alkoholischer Fermente. Ztschr. f. ges. Brauw. **1881.** 449. *329.*

714) Hansen, Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie 1895. *328. 331. 372.*

715) Harlay, Bemerkungen bezüglich der Einwirkung der Wärme auf Papaïn. Journ. Pharm. Chim. (6.) XI. 268. Chem. Cbl. 1900. I. 918. *150.*

716) Harlay, De l'application de la tyrosinase. Thèse. Paris 1900. *365.*

717) Harlay, Du ferment proteol. des graines. C. R. **131.** 623 (1901). *149.*

718) Harris, Note on the reducing-power of the tissues. Journ. of anat. and physiol. **31.** 381. *347.*

719) Harris and Gow, Ferment-actions of the pancreas in different animals. Journ. of Physiol. XIII. 469. *121.*

720) van der Harst, (F. in Pilzen). Naturforscher XI. 108 (1878). *148.*

721) Hartig, Die Zersetzungserscheinungen des Holzes. Berlin. 1878. *222. 241.*

722) Hartig, Der echte Hausschwamm. Berlin. 1885. *241.*

723) Hartley, Spectroscopic notes on the carbohydrates and albuminoïds from grain. Journ. Chem. Soc. **51.** 58 (1887). *252.*

724) Hasebroek, Ueber erste Producte der Magenverdauung. Z. phys. Ch. XI. 348. *133.*

725) Hausmann, Ueber Abrin. Hofm. Beitr. II. 134 (1902). *161.*

726) Hayduck, Ueber Milchsäuregährung. Chem. Centrbl. **1887.** 1042. *300.*

727) Hayer, Note additionelle sur le digest. chez. les insectes. Bruxelle 1877. Z. f. phys. Ch. II. 208. *101.*

728) Hazewinkel, Das Indican, seine Spaltung u. das bei derselben wirksame Enzym. Maly's Jb. **30.** 976 (1900). *282.*

729) Hedin, Ueber ein neues Spaltungsproduct der Hornsubstanz. Z. phys. Ch. XX. 186. *138.*

730) Hedin, Ueber die Bildung von Arginin aus Proteinkörpern. Z. phys. Ch. XXI. 155. *138.*

731) Hedin, Eine Methode, das Lysin zu isoliren, nebst einigen Bemerkungen über das Lysatinin. Z. phys. Ch. **21.** 297. *137.*

732) Hedin, Zur Kenntniss der Spaltungsproducte der Proteinkörper. Z. phys. Ch. **22.** 191. *139.*

733) Hedin, Zur Kenntniss der Producte der tryptischen Verdauung des Fibrins. Du Bois' Arch. f. Phys. **1891.** 273. *137.*

734) Hedin u. Rowland, Ueber ein proteolyt. Enzym in der Milz. Z. phys. Ch. **32.** 341 (1901). *144.*

735) Hedin u. Rowland, Unters. üb. d. Vorkommen von proteolyt. Enzymen im Thierkörper. Z. phys. Ch. **32.** 531 (1901). *144.*

736) Hehner, On the influence of boric acid on peptic digestion. Analyst. XVI. 126 (1891). *107.*

737) Heidenhain, Untersuchungen über den Bau der Labdrüsen. Arch. f. mikr. Anat. II. 368. *97.*

738) Heidenhain, Beiträge zur Kenntniss des Pankreas. Pflüg. Arch. X. 557. *120. 121. 125. 128.*

739) Heidenhain, Ueber die Pepsinbildung in den Pylorusdrüsen. Pflüg. Arch. XVIII. 169. *98.*

740) Heine, Der physiologische Abbau von Amylum und Glykogen. Fortschr. d. Med. XIII. 789. *233.*

741) Heinricher, (Myrosin) cit. n. Spatzier. Pringsheim's Jb. **25.** 39 (1893). *280.*

742) Heintz, Ueber die Ursache der Coagulation des Milchcaseïns durch Lab und über sogenannte amphotere Reaction. J. f. pr. Ch. N. F. VI. 374 (1872). *173.*

743) van Helmont, Opuscula medica inaudita I. de Lithiasi. *290.*

744) Hemala, Zur Kenntniss der in der chemischen Physiologie zur Anwendung gekommenen Nitroprussidsalzreactionen. Krukenberg's chem. Unters. z. wissensch. Medicin. II (1888). 119. *140.*

745) Hemmeter, Ueb. d. Vorkommen von proteolyt. Ferm. im Inhalt d. menschl. Colons. Pflüg. Arch. **81.** 151 (1900). *122. 233.*

746/47) Henneberg, Weitere Untersuchungen über Essigbacterien. I und II. C. f. Bact. (2.) IV. 14. 71 (1898). *372.*

748/49) Henninger, Recherches sur les peptones. Comptes rendus. **86.** 1413. 1464. *115.*

750) Henri, Ueb. d. Gesetz d. Wirkg. d. Invertins. Z. physik. Chemie. **39.** 194 (1902). *57.*

751) Henri, Theorie générale de l'action de quelques diastases. C. R. 135. 916 (1902). *58.*

752) Henri, Lois générales des diastases. Paris 1903. *209. 254. 276.*

753) Henriques, Ueber die reducirenden Stoffe des Blutes. Z. phys. Ch. **23.** 244 (1897). *364.*

754) Hensay, Ueber die Speichelverdauung der Kohlehydrate im Magen. Münch. med. Woch. 1901. 1208. *227.*

755) Hérissey, Émulsion des amandes et émulsion de l'Aspergillus niger (Étude comparée). Soc. Biol. 48. 640 (1896). *275.*

756) Hérissey, Action du chloroforme sur la maltase de l'Aspergillus niger. Soc. Biol. 48. 915 (1896). *249.*

757) Hérissey, Présence de l'émulsine dans les lichens. Soc. Biol. 50. 532 (1898). *271.*

758) Hérissey, Recherches sur l'Émulsine. Thèse. Paris 1899. *270.*

759) Heritsch, Ueber die zersetzende Einwirkung des pankreatischen Glycerinauszuges auf Essigsäureäther. Cbl. med. Wiss. **1875.** 449. *285.*

760) Herrmann, Ueber die Verdauung des Fibrins durch Trypsin. Z. phys. Ch. XI. 508. *133.*

761) Herth, Chemische Natur des Peptons u. sein Verhältniss zum Eiweiss. Z. phys. Ch. I. 277. *115.*

762) Herzen, Neue Versuche über den Einfluss der Milz auf die Bildung des eiweissverdauenden pankreatischen Saftes. Cbl. f. med. Wiss. **1877.** 435. *104. 129.*

763) Herzfeld, Ueber Maltodextrin. Inaug.-Diss. Halle. 1879. *213.*

764) Herzog, Ueb. d. Nachweis von Lysin u. Ornithin. Z. phys. Ch. 34. 525 (1902). *137.*

765) Herzog, Liefert das Pankreas ein Dextrose spaltendes, Alkohol und Kohlensäure bildendes Enzym? Hofmeister's Beitr. II. 102 (1902). *320. 362.*

766) Herzog, Ueber alkoholische Gährung. Z. phys. Ch. 37. 149 (1902/03). *317.*

767) Herzog, Notiz über Histidin. Z. phys. Ch. 37. 248 (1903). *139.*

768) Herzog, Ueber Milchsäuregährung. Z. phys. Ch. 37. 381 (1903). *296.*

769) Herzog, Fermentreaction und Wärmetönung. Z. phys. Ch. **37.** 383 (1903). *288.*

770) Hiepe, referirt nach. Ann. Pasteur XI. 348 (1897). *317.*

771) Hildebrandt, Zur Kenntniss der physiologischen Wirkung der hydrolytischen Fermente. Virch. Arch. **121.** 1 (1890). *67.*

772) Hildebrandt, Zur Wirkungsweise des Syzygium Jambolanum beim Diabetes mellitus. Berl. klin. Woch. **1892.** Nr. 1. *237.*

773) Hildebrandt, Die Schicksale der hydrolytischen Fermente im Organismus. Virch. Arch. **131.** 12 (1893). *70.*

774) Hildebrandt, Weiteres über hydrolytische Fermente, deren Schicksal und Wirkungen, sowie über Fermentfestigkeit und Hemmung der Fermentationen im Organismus. Virch. Arch. **131.** 26. (1893). *69. 237.*

775) Hilger, Neues Vorkommen des Inosits im Pflanzenreiche und Ueberführung desselben in Paramilchsäure. Ann. Chem. Pharm. **160.** 336 (1871). *296.*

776) Hill, Reversible zymohydrolysis. Journ. Chem. Soc. **73.** 634 (1898). *40. 42. 52. 249.*

777) *Hillmann, Beitrag zur Kenntniss des Einflusses des Labfermentes. Milchztg. **25.** 86. *179.*

778) *Hillmann, Beitrag zur Kenntniss der Wirkung des Labferments. Mitth. landw. Inst. Univ. Leipzig. **1897.** *179.*

779) Hirsch, Ueber Papaïn und seinen Werth als Digestivum. Therap. Monatsh. **1894.** 609. *152.*

780) Hirschfeld, Ueber die chemische Natur der vegetabilischen Diastase. Pflüger's Arch. **39.** 499. *203.*

781) Hirschfeld, Ueber die Einwirkung des künstlichen Magensaftes auf Essigsäure- und Milchsäuregährung. Pflüger's Arch. **47.** 510 (1890). *299.*

782) Hirschler, Beiträge zur Kenntniss der Fibrinpapaya-Verdauung

und besonders der dabei zu beobachtenden intermediären Globulinbildung. Ungar. Arch. f. Med. I. 341. Maly's Jb. **1892**. 19. *151.*
783) **Hirschler**, Ammoniakbildung bei Pankreasverdauung von Fibrin. Z. phys. Ch. X. 302. *134.*
784) **Hjort**, Neue Eiweiss verdauende Enzyme. Cbl. f. Physiol. X. 192 (1896). *154.*
785/86) **Hlasiwetz** u. **Habermann**, Ueber die Proteïnstoffe. I. u II. Abhandlung. Lieb. Ann. **159**. 304; **169**. 150. *136.*
787) **Höber**, Physik. Chemie der Zelle und Gewebe. Leipzig 1902. *14. 46. 50.*
788) **van t'Hoff**, 8 Vorträge üb. physik. Chemie. Braunschweig 1902. *13.*
789) **Hoffmann**, Mykologische Studien über die Gährung. Bot. Ztg. **1860**. 49. *325.*
790) **Hoffmann**, Die Bindung der Salzsäure im Magensaft. Cbl. f. klin. Med. 1891. 793. *110.*
791) **Hoffmann**, Ueber das Schicksal einiger Fermente im Organismus. Pflüg. Arch. **41**. 148 (1887). *102. 122.*
792) **A. W. Hofmann**, Synthese des ätherischen Oels der Cochlearia officinalis. Chem. Ber. VII. 509 (1874). *279.*
793) **Hofmeister**, Ueber Bildung des Harnstoffs durch Oxydation. Arch. exp. Pathol. **37**. 426 (1896). *358.*
794) **Hofmeister**, Die chemische Organisation der Zelle. Braunschweig 1902. *11. 80. 86.*
795) **Hohmeyer**, Ueb. d. Andeutungen d. Fermentmengen im Magen. Tübingen 1901. *96.*
796) **Holovtschiner**, Ueber Ptyalin und Labferment im menschlichen Harn. Virch. Arch. **104**. 42 (1886). *174. 237.*
797) **Homburger**, Zur Verdauung der Fische. C. med. Wiss. **1877**. 561. *122.*
798) ***Hooker**, Botan. Magazine New Ser. III. 1828. *149.*
799) ***Hooker**, Adress. British Association ref. Nature. X. 366. *153.*
800) **Hopkins** and **Cole**, Contribution to the chemistry of proteids. Journ. of physiol. **27**. 418 (1901). *140.*
801) **Hoppe-Seyler**, Ferment aus Bierhefe. Chem. Ber. IV. 810 (1871). *251.*
802) **Hoppe-Seyler**, Physiol. Chemie. 1881. *116. 119.*
803/04) **Hoppe-Seyler**, Ueber die Erregung des Sauerstoffs durch nascirenden Wasserstoff. — Ueber die Activirung des Sauerstoffs durch freiwerdenden Wasserstoff und die Bildung von Wasserstoffhyperoxyd und salpetriger Säure. Chem. Ber. XVI. 117. 1917 (1883). *347.*
805) **Hoppe-Seyler**, Ueber die Processe der Gährungen u. ihre Beziehung zum Leben d. Organismen. Pflüg. Arch. XII. 1. *47. 293.*
806) **Hoppe-Seyler**, Ueber Unterschiede im chemischen Bau und der Verdauung höherer und niederer Thiere. Pflüg. Arch. XIV. 395. *122. 233.*
807) **Horbaczewski**, Verhalten des Elastins bei der Pepsinverdauung. Darstellung u. Zusammensetzung des Elastins aus Ligamentum nuchae des Rindes. Z. phys. Ch. VI. 330. *119.*
808) **Hoyer**, Bijdrage tot de Kennis van de Azijnbacteriën. C. f. Bact. (2.) IV. 867 (1898). *372.*
809) **Hubatka**, Ueber die Zusammensetzung des Meerrettigöls. Liebig's Ann. **47**. 157 (1843). *279.*
810) **Hueppe**, Ueber die Zersetzungen der Milch und die biologischen Grundlagen der Gährungsphysiologie. Deutsch. med. Woch. **1884**. 777. *187.*
811) **Hueppe**, Untersuchungen über die Zersetzungen der Milch durch Mikroorganismen. Mitth. aus dem

…n, De sachari formatione … Regimonti. 1865. *236*.

…son, Untersuchungen über …e Fermente. Z. phys. Ch. … 1892. 340. *40 44. 275. 352*.

…bsen, Ueber die reducirenden Substanzen des Blutes. Cbl. … Phys. VI. 369 (1892). *364*.

… Jacoby, Ueber Oxydationsfermente der Leber. Virch. Arch. 157. 235 (1899). *353. 359. 361*.

… Jacoby, Ueber das Aldehyde oxydirende Ferment. Z. phys. Ch. 30. 135 (1900). *353*.

… Jacoby, Ueber die fermentative Eiweissspaltung und Ammoniakbildung in der Leber. Z. phys. Ch. 30. 148 (1900). *143. 294*.

831 Jacoby, Ueb. d. Beziehungen der Leber- u. Blutveränderungen bei Pankreasverdauung zur Autolyse. Z. phys. Ch. 30. 174 (1900). *144*.

832 Jacoby, Ueber die Autolyse der Lunge. Z. phys. Ch. 33. 126 (1901). *144*.

833 Jacoby, Ueb. d. erste Auftreten von Aldehydasen. Z. phys. Ch. 33. 128 (1901). *87*.

834/35) Jacoby, Ueber Ricinimmunität. Hofm. Beitr. I. 51 (1901); II. 535 (1902). *161*.

836 Jacoby, Ueb. d. Bedeutung d. intracell. Ferm. Asher-Spiro, Ergebnisse. I. 213 (1902). *72*.

837) Jacoby, Zur Frage der specifischen Wirkung der intracellulären Fermente. Hofmeister's Beitr. III. 446 (1903). *145*.

838) Jacquet, Ueber die Bedingungen der Oxydationsvorgänge in den Geweben. Arch. f. exp. Pathol. 29. 386. *348. 352*.

839) Jaffé, Ueber das Verhalten der Benzoësäure im Organismus der Vögel. Chem. Ber. X. 1925 (1877). *138*.

840) De Jager, Erklärungsversuch üb. die Wirkungsart der ungeformten

Fermente. Virch. Arch. 121. 183 (1890). *25. 54.*

841) De Jager, Ueber die beim Kochen der Milch eintretenden Veränderungen. Maly's Jb. 1897. 288. *180.*

842) v. Jaksch, Studien über den Harnstoffpilz. Z. phys. Ch. V. 395. *292.*

843) v. Jaksch. Ueber das Vorkommen von Fermenten in den Fäces der Kinder, nebst Bemerkungen über das Vorkommen von saccharificirenden Fermenten im Cysteninhalt. Z. phys. Ch. XII. 116. *236.*

844) *Jodlbauer. Zschr. d. V. f. Rübenzuckerindustrie. 1888. 308. *316.*

845) Joest. Unbekannte Infectionsstoffe. C. f. Bact. 31. Heft 89 (1902). *20.*

846) Johannesson, Studien über die Fermente des Magens. Z. klin. Med. XVII. 304 (1890). *174. 175.*

847) Johansen, (Myrosin). Ann. de scienc. nation. d. Botan. (7.) VI. 118 (1887). *272.*

848) Johnson. Studien über das Vorkommen des Labferments im Magen des Menschen unter pathologischen Verhältnissen. Z. f. klin. Med. XIV. 243 (1888). *174. 182.*

849) Jörgensen. Der Ursprung der Weinhefen. C. f. Bact. (2.) I. 321. (1895). *329.*

850) Jorissen, (Linamarin). Journ. de Pharm. d'Anvers. 1894. 23. *271.*

851) Jorissen et Hairs. Bull. Acad. Belg. (3.) 21. 518 (1891). *271.*

852/53) Juhler. Umbildung eines Aspergillus in einen Saccharomyceten. — Ueber die Umbildung des Aspergillus Oryzae in einen Saccharomyceten. C. f. Bact. (2.) I. 16. 326 (1895). *330.*

854) Jung. Pepsinbestimmung nach modernen Methoden und relative digestive Insufficienz. Arch. f. Verdauungskrankheiten. VIII. 605 (1903). *109.*

855) Kalanthar. Ueber die Spaltung von Polysacchariden durch verschiedene Hefeenzyme. Z. phys. Ch. 26. 89 (1898). *252. 263.*

856) Kalischer. Zur Biologie der peptonisirenden Milchbacterien. Arch. f. Hyg. 37. 30 (1900). *187.*

857) Kanitz. Ueber den Einfluss der Hydroxylionen auf die trypt. Verdg. Z. phys. Ch. 37. 75 (1902). *38.*

858) Kassowitz, Allgemeine Biologie. Wien 1899. *11. 80.*

859) Kastle and Loevenhart, Concerning lipase, the fat splitting enzyme and the reversibility of its action. Amer. Chem. Journ. 24. 491 (1900). *53. 286.*

860) Kastle and Loevenhart, On the nature of certains of the oxidizing ferments. Amer. Chem. Journ. 26. 539 (1901). *351.*

861) Kastle and Shedd, Phenolphtalin as a reagent for the oxidizing ferments. Amer. chem. Journ. 26. 527 (1901). *348.*

862) Kawalier, Untersuchung der Blätter von Arctostaphylos uva ursi. J. prakt. Ch. 58. 193 (1853). *274.*

863) Kayser. Contribution à l'étude physiologique des levures alcooliques du lactose. Ann. Pasteur V. 395 (1891). *329.*

864) Kayser. Études sur la fermentation lactique. Ann. Inst. Pasteur VIII. 779 (1894). *299.*

865) Kellner, Mori, Nagaoka. Beiträge zur Kenntniss invertirender Fermente. Z. phys. Ch. XIV. 297. *223. 248.*

866) Kionka. Zur Kenntniss der physiologischen Wirkung der hydrolytischen Fermente. D. med. W. 1896. 612. *65.*

867) Kirchhoff. Ueber die Zuckerbildung beim Malzen des Getreides und beim Bebrühen seines Mehls

[illegible] Wasser. Schweigg. Journ. XIV. 389 (1815). *202.*

868) Kjeldahl, Untersuchungen über die zuckererzeugenden Fermente. Z. ges. Brauw. 1880. 186. *207.*

869) Kjeldahl, Untersuchungen über das Invertin. Z. ges. Brauw. 1881. [illegible] *254.*

870) Klemensiewicz, Ueb. d. Succus pyloricus. Sitzb. d. Ak. d. Wiss. Wien. Bd. 71. III. Abth. 249. *98.*

871) Klemperer, Die diagnostische Verwerthbarkeit des Labferments. Z. klin. Med. XIV. 282 (1888). *175.*

872) Klemperer u. Scheurlen, Das Verhalten des Fettes im Magen. Z. klin. Med. XV. 370. *287.*

873) Klocker u. Schiönning, Experimentelle Untersuchungen über die vermeintliche Umbildung des Aspergillus oryzae in einen Saccharomyceten. C. f. Bact. (2.) I. [illegible] (1895). [illegible]

874) Klug, Die Verdauungsproducte des Leimes. Cbl. f. Physiol. IV. [illegible]

875) Klug, Untersuchungen üb. Pepsinverdauung. Pflüg. Arch. 60. 43 [illegible]

876) Klug, Beiträge zur Pepsinverdauung. Pflüg. Arch. 65. 330 (1896). [illegible]

877) Klug, Ueber Gasentwicklung bei [illegible]verdauung. Pflüg. Arch. [illegible]

878) Klug, Ueb. d. Ferment der Py[illegible]schleimhaut. Pflüg. Arch. 93. [illegible]

879) [illegible] Untersuchungen über Verdauung und Stoffwechsel der [illegible] f. Fischerei. V. 189 [illegible]

880) [illegible] Ueber die Verdauung [illegible] Stoffwechsel der Fische. [illegible] Arch. [illegible] *306.*

881) [illegible] Auswahl von Kohlehydraten durch verschiedene Hefen bei der alkoholischen Gährung. C. f. Bact. (2.) VII. 215 (1901). *316.*

882) v. Knieriem, Asparaginsäure, ein Product der künstlichen Verdauung von Kleber durch die Pankreasdrüse. Z. f. Biol. XI. 199. *136.*

883) Knoesel, Die Einwirkung einiger Antiseptica auf alkoholische Gährung. C. f. Bact. (2.) VIII (1902). *337.*

884) Kobert, Giftspinnen. Stuttgart 1901. *161.*

885) Köbner, Ueber die Veränderungen des Rohrzuckers im Magen-Darmkanal. Z. f. Biolog. 33. 404 (1896). *261.*

886) Koch u. Hosaeus, Das Verhalten der Hefe gegen Glykogen. C. f. Bact. XVI. 145 (1894). *316.*

887) Kohnstamm, Die Fermente holzzerstörender Pilze. Diss. Erlangen 1900. *223. 241.*

888/90) Kolbe, J. pr. Ch. N. F.: Ueber eine neue Darstellungsmethode u. einige bemerkenswerthe Eigenschaften der Salicylsäure (X. 89.). — Weitere Mittheilungen über Wirkungen der Salicylsäure (XI. 9. 213). — Ueber die chemische Natur der Salicylsäure (XII. 151). — Abweisung nicht begründeter Urtheile von Halbchemikern über die antiseptischen Eigenschaften der Salicylsäure (XII. 161). *39.*

891) Kölle, Weiteres über das Invertin. Z. phys. Ch. 29. 429 (1900). *252.*

892) Konowaloff, Die käuflichen Pepsinpräparate im Vergleich zum normalen Magensaft. Diss. Petersburg 1893. Maly's Jb. 1893. 289. *102.*

893) Kopp, Geschichte der Chemie. IV. *2. 308.*

894) Korowin, Ueber die fermentative Wirkung des pankreatischen Saftes u. der Glandulae Parotis von Neugeborenen u. Brustkindern auf

Stärke. Cbl. med. Wiss. 1873. 261. 305. *229. 231.*

895) Korschun, Ueber Lab und Antilab. Z. phys. Ch. 36. 141 (1902). *181. 184.*

896) Korschun, Sind im Labmolecül mehrere functionirende Gruppen anzunehmen? Z. phys. Chem. 37. 366 (1903). *65. 185.*

897) Kosai u. Yabe, Ueber die bei der Sakebereitung betheiligten Pilze. C. f. Bact. (2.) I. 619 (1895). *330.*

898) Kosmann, Étude sur les ferments contenus dans les plantes. C. R. 81. 406. *261.*

899) Kosmann, Recherches chimiques sur les ferments contenus dans les végétaux, et sur les effets produits par l'oxydation du fer sur les matières organiques. Bull. soc. chim. (1877.) 27. 257. *222. 260.*

900/03) Kossel, Z. phys. Ch.: Das Nuclein der Hefe (III. 284). — Das Nuclein der Hefe, eiweissähnliches Spaltungsproduct des Nucleins (IV. 291). — Ueber die Herkunft des Hypoxanthins in den Org. (aus Nuclein) (V. 251). — Verbreitung des Hypoxanthins im Thier- und Pflanzenreich (V. 265). *156.*

904) Kossel, Ueber die basischen Stoffe des Zellkerns. Z. phys. Ch. 22. 176. *138. 139.*

905) Kossel u. Matthews, Zur Kenntniss der Trypsinwirkung. Z. phys. Ch. 25. 190. *132. 138.*

906) Kossel, Ueber die Darstellung und den Nachweis des Lysins. Z. phys. Ch. 26. 586. *137.*

907) H. Kossel, Ueber bactericide Bestandtheile thierischer Zellen. Z. f. Hyg. 27. *171.*

908) *Köster, Nagra bidrag till kännedomen etc. Upsala läkaref. förh. XVI. 514. *179.*

909) Krabbe, Untersuchungen über das Diastaseferment unter specieller Berücksichtigung seiner Wirkung auf Stärkekörner innerhalb der Pflanze. Jahrb. f. wiss. Botanik. XXI. 520 (1890). *204. 222.*

910) Krauch, Beitr. zur Kenntniss der ungeformten Fermente im Pflanzensafte. Landwirthschaftl. Versuchsstation. 23. 78 (1879). *148. 207. 220. 282.*

911) Krauch, Ueber peptonbildende Fermente in den Pflanzen. Landwirthsch. Versuchsst. 27. 303 (1882). *148.*

912) Kraus, Ueber die Zuckerumsetzung im menschlichen Blute ausserhalb des Gefässsystems. Zsch. f. klin. Med. 21. 315. *361.*

913) Krause, Ueber durch Pressung gewonnenen Zellsaft des Bacillus pyocyaneus nebst einer kurzen Mittheilung über die Einwirkung des Druckes auf Bacterien. Cbl. f. Bact. 31. 673 (1902). *158.*

914) Krueger, Bacteriologisch-chemische Untersuchung käsiger Butter. C. f. Bact. VII. 467 (1890). *290.*

915) Krüger, Untersuchungen über die fermentative Wirkung des Dünndarmsaftes. Z. f. Biol. 37. 229 (1899) *261.*

916) Krukenberg, Untersuchungen aus dem physiolog. Inst. Heidelberg. Bd. II. *100. 101. 122. 155. 229. 233.*

917) Kübel, Ueber die Einwirkung verschiedener chemischer Stoffe auf die Thätigkeit des Mundspeichels. Pflüg. Arch. 76. 276. *39. 205. 226. 227. 228.*

918) Kühne, Ueber die Verdauung der Eiweissstoffe durch den Pancreassaft. Virch. Arch. 39 (1867). 130. *120.*

919) Kühne, Ueber Indol aus Eiweiss. Chem. Ber. VIII. 206 (1875). *140.*

920) Kühne, Verhdlg. d. Heidelbg. Naturhist. Med. Vereins. N. F. I.

(1876). 194 und III. 463. *121. 126. 127.*

921) **Kühne**, Verhdlg. Naturhist. Med. Vereins Heidelbg. 1877. 190. *104. 127.*

922) **Kühne**, Ueber Hemialbumose im Harn. Z. f. Biol. XIX. 209. *112.*

923) **Kühne**, Unters. physiol. Inst. Heidelbg. I (1878). 222. *121.*

924) **Kühne**, Ueber die Peptone. Z. f. Biol. **22**. 450. *115. 133.*

925) **Kühne**, Bemerkung zu der Mittheilung von Pekelharing: Pepton und Albumose. Z. f. Biol. **28**. 571. *133.*

926/27) **Kühne**, Erfahrungen über Albumosen und Peptone. Z. f. Biol. **29**. 1. 308. *115. 133.*

928) **Kühne u. Chittenden**, Ueber die nächsten Spaltungsproducte der Eiweisskörper. Z. f. Biol. XIX. *112. 160.*

929) **Kühne u. Chittenden**, Ueber Albumosen. Z. f. Biol. XX. 11. *112. 160.*

930) **Kühne u. Chittenden**, Globulin und Globulosen. Z. f. Biol. XXII. 409. *113.*

931) **Kühne u. Chittenden**, Myosin und Myosinosen. Z. f. Biol. 25. 358. *113.*

932) **Külz**, Zur Kenntniss der Maltose. Pflüg. Arch. XXIV. 81. *225. 249.*

933) **Külz u. Vogel**, Welche Zuckerarten entstehen bei dem durch thierische Fermente bewirkten Abbau der Stärke und des Glykogens? Z. f. Biol. **31**. 108 (1895). *233. 249.*

934) **Kuprianow**, Beiträge zur Biologie der Vibrionen. Arch. f. Hyg. XIX. 282 (1893). *298.*

935) **Kurajeff**, Zur Kenntniss der Bromproteïnochrome. Z. phys. Ch. **26**. 501. *140.*

936) **Kurajeff**, Ueber die coagulir. Wirkung des Papayotins auf Peptonlösung. Hofm. Beitr. I. 121 (1901).

937) **Kurajeff**, Zur Kenntniss der durch Papayotin u. Lab erzeugten Albumosenniederschläge. Hofm. Beitr. II. 411 (1902). *159.*

938) **Kussmaul**, Diastase-Einspritzungen bei Diabetes. Arch. f. klin. Med. XIV. 42 (1874). *69. 238.*

939/40) **Kutscher**, Ueber das Antipepton I und II. Z. phys. Ch. **25**. 195. **26**. 110. *133. 138.*

941) **Kutscher**, Der Nachweis der Glutaminsäure unter den durch starke Schwefelsäure erzielten Spaltungsproducten des thierischen Eiweiss. Z. phys. Ch. **28**. 123. *136.*

942) **Kutscher**, Die Endproducte der Trypsinverdauung. Habil.-Schrift. Strassburg 1899. *110. 133.*

943) **Kutscher**, Die Oxydationsproducte des Arginins. Z. phys. Ch. **32**. 413 (1901). *138.*

944) **Kutscher**, Chemische Untersuchungen über die Selbstgährung der Hefe. Z. phys. Ch. **33**. 59 (1901). *156.*

945) **Kutscher**, Das proteolyt. Enzym der Thymus. Z. phys. Ch. **34**. 114 (1902). *144.*

946/47) **Kutscher u. Seemann**, Zur Kenntniss der Verdauungsvorgänge im Dünndarm. I und II. Z. phys. Ch. **34**. 530; **35**. 432 (1902). *101. 123. 132. 145.*

948) **Kützing**, Microscopische Untersuchungen über die Hefe und Essigmutter, nebst mehreren anderen dazu gehörigen vegetabilischen Gebilden. J. prakt. Ch. XI. 385. *322. 372.*

949) **Kyes**, Ueber die Wirkungsweise des Cobragiftes. Berl. klin. Wochschr. **1902**. Nr. 38/39. *161.*

950) **Kyes u. Sachs**, Zur Kenntniss d. Cobragift activirenden Substanzen. Berl. klin. Woch. **1903**. Nr. 2—4. *88. 161.*

951) **Laborde**, Sur la casse des vins. C. R. **123**. 1074 (1896). *367.*

952) Laborde, Recherches physiol. sur une moisissure nouvelle, l'Eurotiopsis Gayoni. Ann. Pasteur XI. 1 (1897). *265.*

953) Laborde, Influence de quelques alcools à fonction simple ou complexe sur la digestion des albuminoïdes par la pepsine ou la trypsine. Soc. Biol. 51. 821 (1899). *108.*

954) Ladureau, Sur le ferment ammoniacal. C. R. 99. 877 (1884). *292.*

955) Lafar, Physiologische Studien über Essiggährung und Schnellessigfabrikation. C. f. Bact. XIII. 684 (1893). *371. 372.*

956) Landsteiner, Zur Kenntniss der antifermentativen, lytischen und agglutinirenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. C. f. Bact. 27. 357. (1900). *128.*

957) Langendorff, Ueber die Entstehung der Verdauungsfermente beim Embryo. Du Bois' Arch. f. Phys. 1879. 95. *87.*

958) Langley, Some remarks on the formation of ferment in the submaxillary gland of the rabbit. Journ. of Physiol. I. 68. *229.*

959) Langley, On the destruction of ferments in the alimentary canal. Journ. of phys. III. 246. *70. 104. 126. 127. 206. 227.*

960) Langley, On the histol. of mammalian gastric glands. Journ. of physiol. III. 269 (1881). *99.*

961) Langley, On certain conditions which influence the amylolytic action of saliva. Journ. of physiol. IV. 18. *206.*

962) Langley and Edkins, Pepsinogen and Pepsin. Journ. of physiol. VII. 371 (1886). *99.*

963/64) Langstein, Endproducte d. pept. Verdauung. Hofmeister's Beitr. I. 507 (1901); II. 229 (1902). *117.*

965) Langstein, Ueber das Vorkommen von Albumosen im Blute. Hofmeister's Beitr. III. 373 (1903). *132.*

966) Lannois et Lépine, Sur la manière différente dont se comportent les parties supér. et inf. de l'intestin grêle au point de vue de l'absorption et de la transsudation. Arch. de phys. 1883. 92. *232.*

967) Larguier des Bancels, De l'influence de la macération intestinale bouillie. Soc. Biol. 54. 651 (1902). *131.*

968) Latschenberger, Ueber die Wirkungsweise der Gerinnungsfermente. C. f. Phys. IV. Nr. 1 (1890). *23.*

969) Laurent, Ueber Physiologie der Hefen. Ann. d. l. soc. belg. d. microscopie XIV. (Koch's Jb. üb. Gährungsorg. 1890. 54.) *333.*

970) Lavoisier, Elém. de chimie I. (II. édit). *308.*

971) Lawrow, Z. Kenntn. d. Chemismus d. pept. und trypt. Verdauung. Z. phys. Ch. 26. 513 (1898). *116. 159.*

972) Lawrow u. Salaskin, Ueb. die Niederschlagsbildung in Albumoselösungen. Z. phys. Ch. 36. 277 (1902). *160.*

973) Lawson Tait, Nature. (1875.) XII. 251. *153.*

974) Lea, On a „rennet“ ferment contained in the seeds of Withania coagulans. Proceed. Royal Soc. Lond. 36. 55 (Nov. 1883). *32. 35. 186.*

975) Lea, Some notes on the isolation of a soluble ureaferment from the Torula ureae. Journ. of physiol. VI. 136. *252. 292.*

976) Lea, A comparative study of artificial and natural digestions. J. of phys. XI. 234 (1890). *228.*

977) Lea and Dickinson, Notes on the mode of action of rennin and

[illegible]

sérum. — C. R. **113**. 1014 (1891). *69. 237.*

993) Lépinois, Sur les ferments solubles décomposants l'eau oxygénée. Soc. Biol. **51**. 401 (1899). *45.*

994) Lépinois, Sur l'existence, dans l'organisme animal, de plusieurs matières albuminoides décomposant l'eau oxygénée. Soc. Biol. **51**. 428. (1899). *356.*

995) Leube, Ueber die ammoniakalische Harngährung. Virch. Arch. **100**. 540. *291 292*

996) Leube Beiträge zur Frage vom Vorkommen der Bacterien im lebenden Organismus, speciell im frisch gelassenen Harn der Gesunden. Ztsch. für klin. Med. III. 233 (1881). *291.*

997) Leuchs, Zur Kenntniss der diastatischen Wirkung des menschlichen Speichels, nebst einem kurzen Abriss der Geschichte dieses Gegenstandes. Kastner's Archiv f. d. gesammte Naturlehre. 1831. Cit. n. Schlesinger. Virch. Arch. **125**. 1416. *225. 260.*

998) Levene, A note on the chemical nature of trypsin. Amer. Journ. of Physiol. V. 298 (1901). *124.*

999) Levene, Embryochemische Untersuchungen. Z. phys. Ch. **35**. 80 (1902). *135.*

1000) Levene, Ueber die Spaltung der Gelatine. Z. phys. Ch. **37**. 81 (1903). *119.*

1001) Lewin, Das Thymol ein antiseptisches und antifermentatives Mittel. C. med. Wiss. 1875. 324. *39.*

1002) Liborius, Beiträge zur Kenntniss des Sauerstoffbedürfnisses der Bacterien. Zschr. f. Hyg. I. 115. *155. 344.*

1003) Liebig, Chemische Briefe. 1865. *5.*

1004) Liebig, Chemische Briefe. 6. Aufl. 1878. *290.*

1005) Liebig, Ueber Glycocoll (Leimzucker) und einige seiner Zer-

setzungsproducte. Liebig's Ann. **60**. 1. *5*.
1006) Liebig, Ueber die Gährung und die Quelle der Muskelkraft; über die Alkoholgährung. Liebig's Ann. **153**. 1. (1870). *5. 251. 325*.
1007) Liebig, Ueber die Essiggährung. Liebig's Ann. **153**. 137. *5. 251*.
1008/09) Liebig, Ueber die Gährung und die Quelle der Muskelkraft. I und II. Journ. f. prakt. Ch. N. F. I. 35. 312. *371*.
1010) Liebig u. Wöhler, (Emulsin). Ann. de Pharm. XXII. 1 (1837). Poggendorff's Ann. **41**. 345. *270*
1011) Lilienfeld, Ueber Blutgerinnung. Z. phys. Ch. XX. 89 (1894). *189*.
1012) Lindberger, Beiträge zur Kenntniss der Trypsinverdauung bei Gegenwart von freien Säuren. Maly's Jb. XIII. 280 (1883). *126*.
1013/14) Lindet, Influence de la température de fermentation sur la production des alcools supérieurs — Sur la production des alcools supérieurs pendant la fermentation alcoolique. C. R. **107**. 182 (1888). **112**. 102 (1891). *314*.
1015) Lindet, Sur l'oxydation du tannin de la pomme à cidre. C. R. **120**. 370 (1895). *367*.
1016) Lindner, Gährversuche mit verschiedenen Hefen. Woch. f. Brauerei. XVIII. 713 (1900). Chem. Cbl. **1901**. I. 56. *315*.
1017) Ling and Baker, (Isomaltose). Journ. Chem. Soc. **67**. 702. 739. *216*.
1018) Linossier, Étude des ferments oxydants. Péroxydase du pus. Soc. Biol. **50**. 373 (1898). *351. 356*.
1019) Linossier, Influence comparée des principaux alcools etc. Soc. Biol. **51**. 887 (1899). *40*.
1020) Linossier, Action de l'acide sulfureux sur quelques champignons inférieurs et en particulier sur les levures alcooliques. Ann. Pasteur V. 171 (1891). *337*.
1021) Linossier, Recherche et dosage de trypsine. Soc. Biol. **52**. 298 (1900). *124*.
1022/23) Lintner, Studien über Diastase. I. u. II. Abhandlung. Journ. prakt. Chem. N. F. **34**. 378; **36**. 481 (1887). *202. 204. 205. 207*.
1024/27) Lintner, Zsch. f. d. ges. Brauwesen: Ueber das Vorkommen von Isomaltose im Biere und in der Würze (**1891**. 281). — Ueber Isomaltose und deren Bedeutung für die Bierbrauerei (**1892**. 6). — Ueber die Entstehung von Dextrose aus der Stärke durch fermentative Processe (**1891**. 123). — Ueber die Invertirung von Maltose und Isomaltose durch Hefe (**1894**. 414). *216*.
1028) Lintner u. Düll, Versuche zur Gewinnung der Isomaltose aus den Producten der Stärkeumwandlung durch Diastase. Z. f. angew. Ch. **1892**. 263. *216*.
1029) Lintner u. Düll, Ueber den Abbau der Stärke unter dem Einflusse der Diastasewirkung. Chem. Ber. **26**. 2533 (1893). *217*.
1030) Lintner u. Kröber, Ueber Hefeglycase. Chem. Ber. **28**. 1050 (1895). *249*.
1031) Lintwarew, Ueber den Einfluss der verschiedenen physiologischen Verhältnisse auf den Zustand u. die Quantität der Fermente im Pankreassaft. Diss. Petersburg 1902. Biochem. Centralbl. I. Heft 3. *131*.
1032) v. Lippmann, Zur Nomenclatur der Enzyme. Chem. Ber. **36**. 331. (1903). *200*.
1033) Lister, Lactic fermentation and its bearings on pathology. Pharmaceut. Journ. VIII. 555 (1877/78). *296*.
1034) Liversidge, On the amylolytic ferment of the pancreas. Journ.

of anat. and physiol. VIII. 23 (1874). *231.*

1035) Lobry de Bruyn, (Pseudofructose). Recueil des trav. chim. des Pays-Bas. 1897. *315.*

1036) Locke, (Labferment). Journ. of exp. medic. II. 493 (1897). *183.*

1037) J. Loeb, Warum ist die Regeneration kernloser Protoplasmastücke unmöglich oder erschwert? Arch. f. Entwicklungsmech. VIII. 689 (1899). *357.*

1038) Loeb, Ueber Versuche mit bacteriellem Lab u. Pepsin. Cbl. f. Bact. 32 Heft 6 (1902). *127. 187.*

1039) O. Loew, Eine Hypothese über die Bildung des Albumins. Pflüg. Arch. 22. 503 (1880). *26.*

1040) Loew, Ueber die chemische Natur der ungeformten Fermente. Pflüg. Arch. 27. 203. *8. 26. 27. 121. 203.*

1041) Loew, Ueber das Verhalten des Asoimids zu lebenden Organismen. Chem. Ber. 24. 2947 (1891). *40.*

1042) Loew, (Formaldehyd). Science. 1899. S. 955. *27.*

1043) Loew, Curing and fermentation of cigar-leaf tobacco. C. f. Bact. (2.) V. 730 (1899). *366.*

1044) Loew, A new enzyme of general occurrence. Bull. Depart. Agricult. Washington 1900. *45.*

1045) Loew, Sind Bacterien die Ursache der Tabakfermentation? C. f. Bact. (2.) VI. 108 (1900). *366.*

1046) Loew, Nochmals die Tabakfermentation. Cbl. f. Bacter. (2.) VII. 663 (1901). *366.*

1047) Loewi, Ueber das harnstoffbildende Ferment der Leber. Z. phys. Ch. 25. 511 (1898). *358.*

1048) Loewi, Ueber Eiweisssynthese im Thierkörper. Arch. f. exp. Path. 48. 303 (1902). *123.*

1049) v. Lookeren-Campagne, Bericht über Indigo-Untersuchungen. Landw. Versuchsst. 48. 401. 1894. *281.*

1050) Lörcher, Ueber Labwirkung. Pflüg. Arch. 69. 141 (1898). *175. 182.*

1051) *Lubavin, Hoppe-Seyler's Unters. z. med. Chemie. I. 463. *118.*

1052) Lüdersdorff, Ueber die Natur der Hefe. Poggendorff's Ann. 67. 408 (1846). 304.

1053) Ludwig u. Lange, (Sinigrin). Zschr. f. Pharm. III. 430. 577. *278.*

1054) Lumia, Staz. sperim. agrar. ital. 31. 397. Maly's Jb. 1899. 724. *289.*

1055) Lundberg, Kleinere Beiträge zur Kenntniss des Caseïns. Maly's Jb. 1876. 11. *180. 181.*

1056) Lutz, (Emulsin). Bull. soc. botan. de France. 44. 26. 263 (1897). *270.*

1057) Mach u. Portele, Ueber das Verhältniss, in welchem sich Alkohol und Hefe während der Gährung bilden. Landw. Versuchsst. 41. 261 (1892). *313. 335.*

1058) Madsen, Ueber Tetanolysin. Z. f. Hyg. 32. 214 (1899). *161.*

1059) Maercker, Chemische Untersuchungen auf dem Gebiete der Spiritusfabrikation. Thiel's Landw. Jb. 1877. Suppl.-H. 286. *215.*

1060) Magnus-Levy, Ueber die Säurebildung bei der Autolyse der Leber. Hofmeister's Beitr. II. 261 (1902). *146. 300.*

1061) Malfatti, Beitr. z. Kenntniss d. peptischen Verdauung. Z. phys. Ch. 31. 43 (1900). *117.*

1062) Malfitano, La protéolyse chez l'Aspergillus niger. Ann. Pasteur XIV. 60 (1900). *154.*

1063) Maly, Ueber die chemische Zusammensetzung u. physiologische Bedeutung der Peptone. Pflüg. Arch. IX. 592 (1874). *94.*

1064) Manabu Miyoshi, Die Durchbohrung von Membranen durch Pilzfäden. Jahrb. wiss. Botan. 28. 227 (1895). *242.*

1065) Manasse, Ueber zuckerabspaltende, phosphorhaltige Körper in Leber und Nebenniere. Z. phys. Ch. XX. 478 (1895). *364.*
1066) Mann, Action de certaines substances antiseptiques sur la levure. Ann.Pasteur VIII. 785 (1894). *337.*
1067) Mann, (Pepsinverdauung). Diss. Erlangen. 1897. *107.*
1068) *Marcet,(Lipase).The med.Times. 1858. 210. *287.*
1069) Marshall u. Morgenroth, Ueber Differenzirung von Complementen durch ein Partialanticomplement. C. f. Bact. **31.** 570 (Nr. 12). (1902.) *169.*
1070) Martin, Papaïn-Digestion. Journ. of Phys. V. 220. *151.*
1071) Martin, The nature of papaïn and its action on vegetable proteid. Journ. of Physiol. VI. 340. *150. 151. 186.*
1072) Martinaud, Action de l'air sur le moût de raisin. C. R. **120.** 1426 (1895). *367.*
1073) Maszewski, Ueb. einige Beding. d. Ptyalinwirkg. Z. phys. Ch. **31.** 58 (1900). *56.*
1074) Matthes, Experim. Beitr. z. Frage d. Hämolyse. Münch. med. W. **1902.** 8. *92.*
1075) A. Mayer, Gährungschemie. *2. 308. 310. 327. 333. 334. 335. 336. 340. 342.*
1076) A. Mayer, Landw. Versuchsst. XVI. 277. *326.*
1077) A. Mayer, Ueber den Einfluss des Sauerstoffzutritts auf die alkoholische Gährung. Landw. Versuchst. 25. 301. *340.*
1078) A. Mayer, Enzymologie. Heidelberg 1882. *8. 20. 28. 40. 68. 183. 254. 313. 314. 317. 322.*
1079) A. Mayer, Weitere Beiträge zur Kenntniss der Wirkung des Invertins. Z. ges. Brauw. 1882. 86. *254.*
1080) A. Mayer, Zur Kenntniss der Wirkung des Labferments. Landw. Versuchst. 27. 247 (1882). *182.*
1081) A. Mayer, Einige Bedingungen der Pepsinwirkungen. Z. f. Biol. **28.** 49 (1891). *103.*
1082) A. Mayer, Studien über Milchsäuregährung. Maandbl. f. Naturweetensch. 1892. *299.*
1083) A. Mayer, Ueber die Vertheilung der diastatischen Enzyme in der Kartoffelpflanze. Chem. Cbl. **1900.** I. 824. *82.*
1084) A. Mayer u. Knieriem, Landw. Versuchsst. XVI. 305. *373.*
1085) Mays, (Trypsin). Unters. physiol. Instit. Heidelbg. III. 378. *127.*
1086/87) Mazé, Signification physiologique de l'alcool dans le règne végétal. — Recherches sur la digestion des réserves dans les graines en voie de germination et leur assimilation par les plantules C. R. **128.** 1608 (1899). **130.** 424 (1900). *319.*
1088) Mazé, La Zymase de l'Eurotiopsis Gayoni. C. R. **135.** 113 (1902). *306.*
1089) Mazé, Quelques nouveaux races de levure de lactose. Ann. Pasteur XVII. 11 (1903). *265.*
1090) Medwedew, Ueber die Oxydationskraft der Gewebe. Pflüg. Arch. 65. 249 (1896). *8. 57. 353.*
1091) Medwedew, Ueber die oxydativen Leistungen der thierischen Gewebe. Pflüg. Arch. 74. 193 (1899). *41.*
1092) Mees, Ueber Ausscheidung und Umsetzung von Digestionsfermenten. Maly's Jb. 1885. 269. *104.*
1093/95) Meissner, Ztschr. f. ration. Med. (3.): Untersuchungen über die Verdauung der Eiweisskörper I u. II. (VII. 1; VIII. 280). — Untersuchungen über d. Verdauung der Eiweisskörper VI. (XIV. 303.) 303. *112. 120.*
1096) Mendelson, Ueber die Function der Niere im Fieber. — Virch. Arch. **100.** 291 (1885). *67.*

1097) v. Mering, Einfluss von diastatischen Fermenten auf Stärke, Dextrin u. Maltose. Z. phys. Ch. V. 185 (1881). *226. 247. 249. 261. 302.*

1098) Mesnil, Digestion chez les actinies. Ann. Pasteur XV. 352 (1901). *73. 101.*

1099) Metschnikoff, Destruction extracellulaire des bactéries. Ann. Pasteur. IX. 433 (1895). *164.*

1100) Metschnikoff, L'immunité. Paris 1901. *171.* Dtsch. von J. Meyer, Jena 1902.

1101) Mett, Beiträge zur Physiologie der Absonderungen. Du Bois' Arch. f. Physiol. 1894. 68. *106.*

1102) A. Meyer, Untersuchungen über die Stärkekörner. *222.*

1103) Meyer-Rimbach, Theoret. Chemie. III. Aufl. Leipzig. 1902. *14.*

1104) Mialhe, (Speichel). C. R. XX. 954. *225.*

1105) L. Michaelis, Inactivirungsversuche mit Präcipitinen. C. f. Bacter. 32. Nr. 6 (1902). *172.*

1106) Michaelis u. Oppenheimer, Ueber Immunität gegen Eiweisskörper. Engelm. Arch. f. Physiol. 1902. Suppl.-Heft 2. *92. 171.*

1107) Minkowski, Weitere Mittheilungen über den Diabetes mellitus nach Exstirpation des Pankreas. Berl. klin. Woch. 1892. 5. *361.*

1108) Minkowski, Untersuchungen üb. den Diabetes mellitus nach Exstirpation des Pankreas. Arch. exp. Path. 31. 175 (1893). *361.*

1109) Miquel, De la présence dans l'eau du ferment de l'urée. Bull. soc. chim. 29. 387 (1878). *291.*

1110) Miquel, Annal. de Micrograph. [illegible] cit. in Koch's Jb. 1896/1897. [illegible]

1111/12) Miquel, Sur un nouveau ferment [illegible] de l'urée. — Nouvelles [illegible] sur le bacillus ferment de l'urée. Bull. soc. chim. 31. [illegible] *[illegible]*

1113) Miquel, Sur le ferment soluble de l'urée. C. R. 111. 397 (1890). *293.*

1114) Mitscherlich, Chlorbenzin und Chlorbenzid. Lieb. Ann. XVI, 172. *4.*

1115) Mitscherlich, Ueber die chemische Zersetzung u. Verbindung mittelst Contactsubstanzen. Liebig's Ann. 44. 186 (1842). *324.*

1116) Mitscherlich, Ueber die Zusammensetzung der Wand der Pflanzenzelle. Berlin. Acad. Sitzb. Math.-Naturw. Kl. 1850. 102. *239.*

1117) Miura, Ist der Dünndarm im Stande, Rohrzucker zu invertiren? Z. f. Biol. 32. 277. *261. 262.*

1118) Mochizuki, Zur Kenntniss der tryptischen Eiweissspaltung. Hofmeister's Beitr. I. 44 (1901). *135.*

1119) Mohr, Ueber Lipase aus thierischen Organen. Wochschr. f. Brauerei XIX. 588 (1902). *288.*

1120) Moll, Ueber die Antiurease. Hofm. Beitr. II. 344 (1902). *293.*

1121) *Moncorvo, (Papaïn). Journal de Thérapie. VII. 6 (1800). *149.*

1122) v. Moraczewski, Ueber den Phosphorgehalt der Verdauungsproducte des Caseïns. Z. phys. Ch. 20. 28. *118.*

1123) Morgenroth, Ueber den Antikörper des Labenzyms. Cbl. f. Bacter. 26. 349 (1899). *65. 181. 183.*

1124) Morgenroth, Zur Kenntniss der Labenzyme und ihrer Antikörper. C. f. Bact. 27. 721 (1900). *183. 187.*

1125) Morgenroth, Ueb. d. Tetanus d. Frosches. Arch. intern. d. Pharmacodyn. VII. 265 (1900). *64.*

1126) Morgenroth und Korschun, Ueber die hämolytischen Eigenschaften von Organextracten. Berl. klin. Woch. 1892. No. 37. *171.*

1127) Moriggia u. Ossi, Atti acad. Lincei 1875, cit. n. Fubini: Arch. ital. de Biol. XIV. 436. *271.*

1128/29) Moritz, Zur Gährungsfrage — Zur Abwehr gegen Brefeld

Chem. Ber. VII. 156. 436 (1874). *340.*
1130) Moritz u. Glendinning, Note on diastatic action. Journ. chem. Soc. 61. 689 (1892). *208.*
1131) Morochowetz, Verdauungsgesetze. Maly's Jb. 1886. 271. *119.*
1132 35) Morren, Bull. de l'acad. de science de Belgique: Observations sur les procédés insecticides des Pinguicula (39. 870). — Notes sur lesprocédés insecticides du Drosera rotundifolia L. (40. 6). — Note sur le Drosera binata Labill., sa structure et ses procédés insecticides (40. 525). — Rôle des ferments dans la nutrition des plantes (42. 1019). *154.*
1136) Mouton, Sur les diastases intracellulaires des Amibes. Soc. Biol. 53. 801 (1901). *86.*
1137) Moxter, Die Beziehungen der Leukocyten zu den bacterienauflösenden Stoffen thierischer Säfte. Dtsch. med. Woch. 1899. No. 42. *170.*
1138) Mroczkowski, Ueber die Entstehung eines die Eiweissstoffe (Fibrin) in der Art des Trypsins (Pankreas-Ferments) verdauenden Körpers in den keimenden Samen und im Hühnereiweiss bei Einwirkung der Luft auf dasselbe. Biol. Cbl. IX. 154 (1889/90). *122.*
1139) Mrotschkowsky, Unorganisirte Fermente. Diss. Petersbg. 1891. *40.*
1140) Mulder, Chemie des Bieres. Leipzig 1858. *219. 288.*
1141) Müller, Ueber Conservirung und Concentrirung des menschlichen Harns. Journ. prakt. Ch. 81. 452 (1860). *291.*
1142) Müller, Ueber die antiseptische. Eigenschaft der Salicylsäure gegenüber der der Carbolsäure. Journ. pr. Ch. X. N. F. 444. *40. 226. 227.*
1143) Fr. Müller, Untersuchungen über Icterus. Z. klin. Med. XII. 107 (1877). *287.*
1144) Fr. Müller, Ueber die chem. Vorgänge bei der Lösung der Pneumonie. Verh. naturf. Ges Basel. XIII. 308. *144.*
1145) Fr. Müller, Ueber die Bedeutung der Selbstverdauung. XX. Congr. f. inn. Med. Wiesbaden 1902. *144.*
1146) Müller, Ueber ein diastatisches Ferment im Hühnerei. Münch. med. W. 1899. 1583. *237.*
1147) Müller u. Masuyama, Ueber ein diastatisches Ferment im Hühnerei. Z. f. Biol. 39. 547 (1900). *237.*
1148) Müller-Thurgau, Zur Kenntniss der Wirkung von Diastase und Invertin, besonders in pflanzenphysiologisch. Hinsicht. Landw. Jahrb. 1885. 795. *42. 206. 208. 253. 262.*
1149) Müller-Thurgau, Einfluss der zugespitzten Hefe (Saccharomyces apiculatus) auf die Gährung der Obst- und Traubenweine. Jb. d. deutsch.-schweiz. Versuchsst. f. Obst- etc. Bau. VII. Chem. Cbl. 1899. 916. *329. 331.*
1150) Munk, Ueber die Einwirkung des Wassers und ihre Beziehung zu den fermentativen Spaltungen. Z. physikal. Ch. I. 357 (1877). *52.*
1151) J. Munk, Ueber den Nährwerth des Fleischpeptons (Albumosepepton) von Antweiler. Therap. Monatsh. 1888. 276. *152.*
1152) Müntz, Sur la germination des graines oléagineuses. Ann. de Chim. (4.) XXII. 472 (1871). *288.*
1153) Müntz, Sur les ferments chimiques et physiologiques. C. R. 80. 1250 (1875). *39.*
1154) Müntz, Recherches sur la fermentation alcoolique intracellulairedes végétaux. C. R. 86. 49 (1878). *319.*
1155) Musculus, Sur un papier réactif de l'urée. C. R. 78. 132 (1874). *292.*

1156) Musculus, Ueber die Gährung des Harnstoffs. Pflüg. Arch. XII. 214. *292.*

1157) Musculus, Remarques sur la transformation de la matière amylacée en glucose et en dextrine. Ann. de phys. et chim. (3.). **60.** 203. *205.*

1158) Musculus u. Gruber, Einwirkung verdünnter Schwefelsäure auf Stärke. Z. phys. Ch. II. 182. *247.*

1159) Musculus u. Gruber, Isomere Dextrine aus Stärke. Z. phys. Ch. II. 188 (1878). *212.*

1160) Musculus u. v. Mering, Umwandlung von Stärke und Glykogen durch Diastase, Speichel, Pankreas und Leberferment. Z. phys. Ch. II. 403 (1878). *215. 225. 230. 249.*

1161) Musculus u. v. Mering, Umwandlung des Glykogens in der todtenstarren Leber. Z. phys. Ch. II. 416. *233.*

1162) Mya u. Beltanti, 1. Sulla presenca di fermenti digestivi nell' orina umana normale e patologica. 2. Ueber das Verhalten der Harnfermente bei Morbus Brightii. Gazeta degli Ospitali **1886.** 3, cit. nach Cbl. f. klin. Medic. **1886.** 449. 729. *102.*

1163) Myers, On immunity against proteids. Proceed. pathol. Soc. 1900. *172.*

1164) Naegeli, Beiträge zur Kenntniss der Stärkegruppe. Leipzig 1874. *212.*

1165) Nägeli, Ueber die chemische Zusammensetzung der Hefe. Münch. Acad. **1878.** 178. *251.*

1166) Nägeli, Theorie der Gährungen. München. 1879. *7. 340. 343.*

1167) Nägeli, Die niederen Pilze. 1882. *243. 265.*

1168) Nasse, Untersuchungen über die ungeformten Fermente. Pflüg. Arch. XI. 147. *39. 41. 44. 57. 85. 226. 227. 230. 262. 300.*

1169) Nasse, Bemerkungen zur Physiologie der Kohlehydrate. Pflüger's Arch. XIV. 477 (1877). *211. 225. 230.*

1170) Nasse, Fermentprocesse unter dem Einfluss von Gasen. Pflüg. Arch. XV. 477 (1877). *43. 227. 262.*

1171) Nasse u. Framm, Bemerkungen zur Glycolyse. Pflüger's Arch. **63.** 203 (1896). *361.*

1172) Nasse, Ueber Antagonismus. Maly's Jb. 1892. 584. *41.*

1173) Nasse, Ueber die Wirkung der Fermente. Maly's Jb. 1894. 718. *51.*

1174) Naunyn u. Schultzen, Ueber das Verhalten der Kohlenwasserstoffe im Organismus. Du Bois' Arch. **1867.** 349. *346.*

1175) Neisser u Wechsberg, Ueber das Staphylotoxin. Z. f. Hyg. **36.** 299 (1901), *161.*

1176) Nékám, Der Einfluss von Saccharin auf die Fleischverdauung. Maly's Jb. XX. 250. *107.*

1177) Nencki, Ueber die Spaltung der Säureester der Fettreihe der aromatischen Verbindungen im Organismus und durch das Pankreas. Arch. f. exp. Path. **20.** 377. *132.*

1178) Nencki, Zur Kenntniss der Leucine. Journ. pr. Ch. N. F. XV. 390. *136.*

1179) Nencki, Zur Kenntniss der pankreatischen Verdauungsproducte des Eiweisses. Chem. Ber. **28.** 560 (1895). *140.*

1180) Nencki u. Schoumow-Simanowski, Die Entgiftung der Toxine durch die Verdauungssäfte. Cbl. f. Bacter. **23.** 840 (1898). *111.*

1181) Nencki u. Sieber, Die isomeren Milchsäuren als Erkennungsmittel einzelner Spaltpilzarten. C. f. Bacter. IX. 304. *297.*

1182) Nencki u. Sieber, Beitr. z. Kenntniss d. Magensaftes. Z. phys. Ch. **33.** 291 (1901). *95.*

1183) **Nencki** u. **Sieber**, Contribution à l'étude du suc gastrique. Arch. d. sciences biol. St. Pétersbourg. IX. 47 (1902). *95.*

1184) **Nernst**, Theoret. Chemie. III. Auflg. Stuttgart. 1900. *14.*

1185) ***Neubauer**, Ann. d. Oenolog. IV. 68. *339.*

1186) **Neuberg**, Ueber Cysteïn. Chem. Ber. **35**. 3161 (1902). 141.

1187) **Neumeister**, Lehrbuch d. phys. Ch. 1893. I. *114.*

1188) **Neumeister**, Zur Kenntniss der Albumosen. Z. f. Biol. XXIII. 381. *113.*

1189) **Neumeister**, Ueber die Reactionen der Albumosen u. Peptone. Z. f. Biol. **26**. 329. *140.*

1190) **Neumeister**, Ueber das Vorkommen eines eiweisslösenden Enzyms in jugendlichen Pflanzen. Z. f. Biol. **30**. 447 (1897). *148.*

1191) **Newcombe**, Cellulose-Enzymes. Ann. of Bot. XIII. 49 (1899). *240. 242.*

1192) **Nirenstein** u. **Schiff**, Ueber die Pepsinbestimmung nach Mett und die Nothwendigkeit ihrer Modification für klinische Zwecke. Arch. f. Verdauungskrankh. VIII. 559 (1902). *109.*

1193) **Nobécourt** et **Merklen**, Présence d'un ferment dédoubl. le salol. Soc. Biol. 53. 148 (1901). *286.*

1194) **Nobécourt** et **Sévin**, Le ferment amylotytique du sang. Soc. Biol. 53. 1068 (1901). *236.*

1195/97) **Nussbaum**, Ueber den Bau und die Thätigkeit der Drüsen. Die Fermentbildung in den Drüsen. I, II, III. Arch. f. mikr. Anat. XIII. 721; XV. 119; XVI. 532. *97. 98.*

1198) **Ogata**, Die Zerlegung neutraler Fette im lebendigen Magen. Du Bois' Arch. **1881**. 515. *287.*

1199) **Okunew**, (Plasteïnbildung) cit. v. Kurajeff in Hofm. Beitr. I. 123 (1901). *186.*

1200) **Omelianski**, Sur la fermentation cellulosique. Arch. d. scienc. biolog. IX. (1902). *244.*

1201) **Oppenheimer**, Toxine u. Schutzstoffe. Biol. Cbl. **1899**. 799. *62. 65.*

1202) **Oppenheimer**, Zur Theorie der Fermentprocesse. Münch. med. Woch. **1901**. Nr. 16. *19. 46.*

1203) **Oppenheimer**, Die Bacteriengifte. Handb. d. pathog. Microorg. Hrsg. v. Kolle-Wassermann. Jena 1902. *61. 111. 170. 185.*

1204) **Ortloff**, Arch. de Pharm. **48**. 12 (1846). *274.*

1205) **Osborne**, Beiträge zur Kenntniss des Invertins. Z. phys. Ch. **28**. 399. (1899.) *252.*

1206) **Osborne** u. **Campbell**, Die chemische Natur der Diastase. Journ. Amer. Chem. Soc. XVIII. Chem. Ber. **29** (4.) 1159 (1890). *203.*

1207) **Osborne** and **Zobel**, The sugars of muscle. Journ. of phys. **29**. 1 (1903). *215. 248.*

1208) **Oshima**, Ueber Hefegummi u. Invertin. Z. phys. Ch. **36**. 42 (1902). *252.*

1209) **Osswald**, Untersuchungen über das Papain (Reuss). Münch. med. Woch. **1894**. 665. *152.*

1210) **Otto**, Beiträge zur Kenntniss der Umwandlung von Eiweissstoffen durch Pankreasferment. Z. phys. Ch. VIII. 129. *133.*

1211) **Padéri**, Ueber das angebliche glykolytische Ferment. Soc. med. chir. de Pavia 1896., cit. n. Maly's Jb. **1896**. 211. *361.*

1212) **Pàl**, Beitrag zur Kenntniss der Pankreasfunction. Wien. klin. Woch. **1891**. 64. *360.*

1213) **Panzer**, Zur Kenntniss der Cerebrospinalflüssigkeit. Wiener klin. Woch. **1899**. 805. *237.*

1214) Panzer, Zur Kenntniss der menschlichen Chylusflüssigkeit. Z. phys. Ch. 30. 113 (1900). *236.*

1215) Partsch, Beiträge zur Kenntniss des Vorderdarms einiger Amphibien und Reptilien. Arch. f. mikr. Anat. XIV. 195. *97.*

1216) Paschutin, Zur Frage über die Wirkung des Speichels auf Amylum. Cbl. med. Wiss. **1871.** 372. *228.*

1217) Paschutin, Ueber Trennung der Verdauungsfermente. Müller-Reichert's Arch. f. Physiologie. **1871.** *228. 232.*

1218) Paschutin, Einige Versuche mit Fermenten, welche Stärke und Rohrzucker in Traubenzucker verwandeln. Müller-Reichert's Arch. **1873.** 382. *121. 230.*

1219/21) Pasteur, C. R.: Mémoire sur la fermentation appellée lactique (**45.** 913). — Nouvelles recherches sur la fermentation alcoolique (**47.** 224). — Nouveaux faits pour servir à l'histoire de la levure lactique (**48.** 337). *296.*

1222/1225) Pasteur, C. R.: Expériences relatives aux générations dites spontanées (**50.** 303). — De l'origine des ferments. Nouvelles expériences relatives aux générations dites spontanées. (**50.** 849). — Note sur la fermentation alcoolique (**50.** 1083). — Expériences et vues nouvelles sur la nature des fermentations (**52.** 1260). *291. 324.*

1226) Pasteur, Note relative au penicillium glaucum et à la dissymétrie moléculaire des produits organiques naturels. Compt. Rend. **51.** 298 (1860). *59.*

1227/28) Pasteur, Nouvelles expériences relatives aux générations dites spontanées. — Suite à une précédente communication relative aux générations dites spontanées. C. R. **51.** 348. 675. *291. 324.*

1229) Pasteur, Études sur le vinaigre. Paris 1868. *371.*

1230) Pasteur, Note au sujet d'une assertion de M. Frémy. C. R. **75.** 1056 (1872). *319.*

1231) Pasteur, Mémoire sur la fermentation alcoolique. Ann. de chim. et phys. **58.** 401. *156.*

1232) Pasteur, Die Alkoholgährung. Deutsch v. Griessmayer. Stuttgart 1878. II. Aufl. *251. 295. 302. 312. 322. 324.*

1233) Pasteur et Joubert, Sur la fermentation de l'urine. C. R. **83** 5 (1876). *292.*

1234) Paton, (Leberglycogen). Philos. Transact. **185.** 277 (1897). *234.*

1235) Pautz u. Vogel, Ueber die Einwirkung der Magen- und Darmschleimhaut auf einige Biosen und auf Raffinose. Z. f. Biol. **32.** 304. (1895). *265.*

1236) Pavy, On hepatic glycogenesis. Journ. of physiol. **22.** 391 (1898). *37. 40. 234.*

1237) Pawlow, Die Arbeit der Verdauungsdrüsen. Dtsch. von Walther. Wiesbaden 1898. *57. 84. 106.*

1238) Pawlow u. Pazatchtschuk, Ueber die Niederschlagbildung in Albumoselösungen durch Labwirkung des Magenfermentes; cit. n. Lawrow. Z. phys. Ch. **36.** 290 (1902). *174.*

1239/40) Payen, Réaction de la diastase sur la substance amylacée, dans différentes conditions. — Amidon, dextrine et tissus ligneux Ann. de chim. et phys. (4.) IV, 286; VII. 382. *205.*

1241) Payen et Persoz, Mémoire sur la diastase, les principaux produits de sa réaction, et leur application aux arts industriels. Ann. d. chim. et phys. (II.) **53.** 73. *202. 219.*

1242) *Pekelharing, Ueber die Bedeu der Kalksalze etc. Festschr. f. Virchow. I. 1891. *194.*

1243) *Pekelharing, Untersuchungen über das Fibrinferment. Verh. Akad. Amsterdam. I. 1892. *191.*
1244) Pekelharing. Ueb. eine neue Bereitungsw. d. Pepsins. Z. f. phys. Ch. 22. (1896|97). 233. *95.*
1245) Pekelharing, Mittheil. üb. Pepsin. Z. phys. Ch. 35. S. 1902. *96.*
1246) Pelouze, Mémoire sur la saponification des huiles sous l'influence des matières qui les accompagnent dans les graines. Ann. de chim. et phys, (3.) 45. 319. *288.*
1247) Perdrix, Sur les fermentations produites par un microbe anaérobie de l'eau. Ann. Inst. Past. V. 287 (1891). *224.*
1248/49) Peré, Contribution à la biologie du Bacterium coli commune et du bacille typhique. — Sur la formation des acides lactiques isomériques par l'action des microbes sur les substances hydrocarbonnées Ann. Inst. Pasteur. VI. 528 (1892); VII. 737 (1893). *297*
1250) Permilleux, Rech. de ferm. amylolytique dans le foie. Soc. Biol. 53. 32 (1902). *235.*
1251) Peters, Ueber das Labferment. Diss. Rostock 1894. *173. 178. 187.*
1252) Petit, Stud. üb. d. Verdauungsfermente. Maly's Jb. X. 308. *100.*
1253) Petry, Zur Chemie maligner Geschwülste II. Hofmeister's Beitr. II. 94 (1902). *145.*
1254) Pfaundler, Z. Kenntn. d. Endproducte der Pepsinverdauung. Z. phys. Ch. 30. 90 (1900). *117.*
1255) Pfeffer, Ueber fleischfressende Pflanzen u. über die Ernährung durch Aufnahme organischer Stoffe überhaupt. Landwirthsch. Jahrb. VI. 969 (1877). *153.*
1256) Pfeffer, Pflanzenphysiologie. Leipzig 1881. *271. 272. 319.*
1257) Pfeffer, Ueber Oxydationsvorgänge in lebenden Zellen. Ber. d. dtsch. botan. Ges. VII. 82 (1889). *364. 368.*
1258) Pfeiffer, Ein neues Grundgesetz der Immunität. Deutsch. med. W. 1896. 7 u. 8. *163. 170.*
1259) Pfleiderer, Ein Beitrag zur Pepsin- und Labwirkung. Pflüger's Arch. 66. 605 (1897). *182.*
1260) Pflüger, Ueber die physiologische Verbrennung in den lebendigen Organismen. Pflüger's Arch. X. 252. *347.*
1261) Phisalix, Présence d'une oxydase dans la peau de la grenouille verte. Soc. Biol. 50. 793 (1898). *355.*
1262) Pick, Ueber die sacharificirende Thätigkeit einiger Microorganismen. Wiener klin. Woch. 1889. 89. *224.*
1263) Pick, E. P. Die Spaltung des krystallis. Eiweiss. Z. f. phys. Ch. 24. 246. *114.*
1264) Pick, Zur Kenntniss der peptischen Verdauungsproducte. Z. phys. Ch. 28. 219 (1899). *113.*
1265) Pick, Die sogenannten Deuteroalbumosen. Hofmeister's Beitr. II. 481 (1902). *114.*
1266) Pick, Fr. Ueber das glykogenspaltende Ferment der Leber. Hofm. Beitr. III. 163 (1902). *235.*
1267) Pierallini, Kommen dem menschlichen Pankreas (post mortem) und dem Harn zuckerzerstö-Eigenschaften zu. Z. klin. Med. 39. 26 (1900). *363.*
1268) Piéri et Portier, Sur la présence d'une oxydase dans les branchies, les palpes et le sang des acéphales. C. R. 123. 1314. *354.*
1269) Piéri et Portier, Présence d'une oxydase dans certains tissus des mollusques acéphales. Arch. de Phys. 1897. 61. *354.*
1270) Piria, Recherches sur la salicine Ann. Chem. Phys. (3.) XIV. 257 (1845). *275.*
1271) Piria, Recherches sur la constitution chimique de l'asparagine et de l'acide aspartique. Annal. de chim. et phys. (III.) 22. 160. *147*

1272) v. Planta, Chemische Studien über die Thätigkeit der Bienen. Deutsche Bienenztg. **1879**. 12. *261*.

1273) Pless, Notiz über die flüchtigen Oele mehrerer Cruciferen. Liebig's Ann. **58**. 36 (1846). *279*.

1274) Plimmer, The chemical products resulting by fermentations. London 1903. *214*.

1275/76) Plósz u. Tiegel, Ueber das saccharificirende Ferment der Leber. Pflüg. Arch. VI. 249; VII. 391. *235*.

1277) Plugge, Ueber den Werth der Carbolsäure als Desinfectionsmittel. I. Die fäulniss- und gährungswidrige Wirkung der Carbolsäure. Pflüg. Arch. V. 549. *40*.

1278) Podolinski, Beitr. z. Kenntn. d. pankreat. Eiweissferm. Diss. Breslau 1876. *126*. *128*.

1279) Pódwissotzki, Z. Methode d. Darst. v. Pepsinextracten. Pflüg. Arch. **39**. 62. *99*.

1280) Poehl, Ueb. d. Vorkommen und d. Bildung d. Peptons ausserhalb des Verdauungsapparates. Diss. Dorpat. 1882. Biolog. Cbl. III. 252. *101*. *148*. *154*.

1281) Pohl, Ueber den oxydativen Abbau der Fettkörper im thierischen Organismus. Arch. f. exp. Pathol. **37**. 413. *346*.

1282) Pohl, Zur Kenntniss des oxydativen Ferments. Arch. exp. Path. **38**. 65. *348*. *364*.

1283) Poleck, (Emulsin). Pharmac. Ztg. **1891**. 314. *271*.

1284) Pomeranz, Gleichgewicht zwischen Maltose u. Dextrose. Monatsh. f. Ch. **23**. 270 (1902). *53*.

1285) Popielski, Ueb. d. Charakter d. Function des Pankreas. Cbl. f. Phys. **1902**. 506. *124*.

1286) Popoff, Ueber die Sumpfgasgährung. Pflüg. Arch. X. 142. *293*.

1287) Popoff, Ueb. d. Einfluss von eiweissverdauenden Ferm. auf d. Nucleinstoffe. Z. phys. Ch. **18**. 532 (1894). *118*.

1288) Portes, (Myrosin) Journ. pharm. Chim. **26**. 410 (1877). *272*.

1289) Portier, Recherches sur la lactase. Soc. Biol. **50**. 387 (1898). *266*.

1290) Portier, Oxydase du sang des mammifères, se localisant dans les leucocytes. Soc. Biol. **50**. 452 (1898). *354*.

1291) Portier, Sur la glycose des différents sucres. Soc. Biol. **55**. 191 (1903). *359*.

1292) Pottevin, La tannase, diastase dédoublant l'acide gallotannique. C. R. **131**. 1215. *282*.

1293) Pottevin, La saccharification de l'amidon par la diastase du malt. Mon. scientifique. **1900**. 116. *210*. *218*.

1294) Pottevin, Sur la présence de diastases digestives dans le méconium. Soc. Biol. **52**. 589 (1900). *122*. *236*.

1295) Pottevin, Influence de la configuration stéréochim. des glycosides sur l'activité des diastases hydrolyt. Ann. Pasteur XVII. 31 (1903). *269*.

1296) Pottevin et Napias, Sur la sucrase de la levure. Soc. Biol. **50**. 237 (1898). *252*.

1297) Pozersky, Action de quelques ferments solubles aprés refroidissement vers — 191 degrés au moyen de l'air liquide. Soc. Biol. **52**. 714 (1900). *37*.

1298/99) Pozzi-Escot, Oxydases et reductases. Paris 1902, und C. R. **134**. 81. *370*.

1300) Pozzi-Escot, Sur une importante cause d'erreur dans la recherche des diastases. C. R. **134**. 479. *367*.

1301) Pregl, Ueber Gewinnung, Eigenschaften und Wirkungen des Darmsaftes vom Schafe. Pflüg. Arch. **61**. 388. *232*. *243*. *265*.

1302) Prior, Sind die Hefen Frohberg und Saaz der Berliner Brauereiversuchsstation Hefetypen im physiologischen Sinne? Cbl. f. Bact. (2.) I. 432 (1895). *338.*

1303) *Procter, Gaultherase). Amer. Journ. of Pharm. XV. 241. *277.*

1304) Pröscher, Zur Kenntniss des Krötengiftes. Hofm. Beitr. I. 575 (1901). *161.*

1305) Proust, Faits pour la connaissance des urines et des calculs. Ann. de chim. II. Sér. XIV. 257. *290.*

1306) Prout, Observations on the nature of some of the proximate principles of the urine; with a few remarks upon the means of preventing those diseases, connected with a morbid state of that fluid. Annals of philos. XI. 352 (1818). *290.*

1307) Pugliese, Ueber den Einfluss der Erwärmung auf diastatische Fermente. Pflüger's Arch. 69. 115 *40. 226. 227.*

1308) Pugliese u. Coggi, Wirkung des Chlornatriums auf den Stoffwechsel des Menschen. Maly's Jb. 1897. 729. *43.*

1309) *Pupo. Künstl. Verdauung d. Album. Diss. Genf 1899. *110.*

1310) Puriewitsch, Ueber die Spaltung der Glycoside durch die Schimmelpilze. Ber. d. botan. Ges. XVI. 368 (1898). *273.*

1311) Rachford. The influence of bile, of acids and of alkalis on proteolyt. action. Journ. of phys. 28. 375 (1902). *126.*

1312) Rachford and Southgate, Influence of bile on the proteolytic action of pancreatic juice. Medic. Record. 21. XII. 95 p. 878. *126.*

1313) Rachford u. Southgate, Einfluss der Galle auf die proteolytische Wirkung des Pankreassaftes. Maly's Jb. 26. 393 (1897). *126*

1314) Raciborski, Weitere Mittheilungen über das Leptomin. Ber. d. dtsch. bot. Ges. XVI. 119 (1898). *368.*

1315) Radziejewski. Das Vorkommen von Leucin und Tyrosin im normalen Körper. Virchow's Arch. 36. 1. *139.*

1316) Radziejewski u. Salkowski, Bildung von Asparaginsäure bei der Pankreas-Verdauung. Chem. Ber. VII. 1050. (1874.) *136.*

1317) Rajewski. Ueber das Vorkommen von Alkohol im Organismus. Pflüg. Arch. XI. 22. *320.*

1318) Rapp, Ueber ein in den Hefezellen vorkommendes labartiges Enzym. C. f. Bact. (2.) IX. 625 (1902). *187.*

1319) Rau, Die Bernsteinsäure als Product der alkohol. Gährung zuckerhaltiger Flüssigkeiten, nebst Studien über die quantitative Bestimmung derselben. Arch. f. Hyg. XIV. 225 (1892). *313.*

1320) Raudnitz, Ueber des Vorkommen des Labferments im Säuglingsmagen. Prager med. Woch. 1887. 24. *180.*

1321) Raudnitz, Beitr. z. Kennt. d. oxyd. Ferm. Z. f. Biol. 42. 91 (1901). *45.*

1322) Réaumur, Sur la digestion des oiseaux. I. et II. Mémoire. Mém. de l'Acad. des Sci. 1752. 266. 461. *93.*

1323) Reess, (Alkoholgährg.). Ann. de Oenolog. II. 145. *328.*

1324) Reess, Botan. Untersuchg. über die Alkoholgährungspilze. Leipzig 1870. *328. 338.*

1325) Rees u. Will, Erlanger Phys. med. Soc. 1875. VIII. 13. *153.*

1326) Rees u. Will, Einige Bemerkungen über fleischfressende Pflanzen. Botan. Ztg. 1875. 29./X. 713. *153.*

1327) Reich, Ueb. d. Einw. von Trypsin auf Leim. Z. phys. Ch. **34**. 112 (1902). *142.*

1328) Reinitzer, Natur des Gummifermentes. Zschr. f. phys. Ch. XIV. 453. *241.*

1329) Reinitzer, Ueber das zellwandlösende Enzym der Gerste. Z. phys. Ch. XXIII. 175. *240.*

1330) Reiss, Ueber die Natur der Reservecellulose u. über ihre Auflösungsweise bei der Keimung der Samen. Landw. Jb. XVIII. 711 (1889). *239.*

1331) Rensch, Pharmac. Ztg. **39**. 864. *375.*

1332) Renzi u. Reale, Ueber den Diabetes mellitus nach Exstirpation des Pankreas. Berl. klin. Woch.-schr. **1892**. Nr. 23. *262.*

1333) Reychler, Ueber künstliche Diastase. Chem. Ber. **22**. 414 (1889). *222.*

1334) Reye, Ueber Nachweis u. Bestimmung des Fibrinogens. Diss. Strassburg 1901. *194.*

1335) Rey-Pailhade, Constitution et origine anaérobie du philothion, principe immédiat organique. Soc. Biol. **46**. 455. *370.*

1336) Rey-Pailhade, Existence simultanée de deux ferments d'oxydation dans les cellules végétales. Soc. Biol. **48**. 479 (1896). *366.*

1337) Rey-Pailhade, Études sur les propriétés chimiques de l'extrait alcoolique de levure de bière: formation d'acide carbonique et absorption d'oxygène. C. R. **118**. 201 (1894). *304.*

1338) Richet, Des propriétés chimiques et physiologiques du suc gastrique chez l'homme et les animaux. Journ. de l'anat. et phys. XIV. 285. *206. 227.*

1339) Richet, De quelques faits relatifs à la digestion chez les poissons. Arch. de physiol. X. 536. (1882). *100.*

1340) Richet, De l'action de quelques sels métalliques sur la fermentation lactique. C. R. **114**. 1494 (1892). *299.*

1341) Richet, De la diastase uréopoétique. Soc. Biol. **46**. 525 (1894). *234. 358.*

1342) Richet, De la formation d'urée dans le foie après la mort. C. R. **118**. 1127. *358.*

1343) van Rijn, Die Glucoside. Berlin. 1900. *270.*

1344) Ringer, Regarding the action of salts on caseine and on milk. J. of physiol. XI. 464. *178. 182.*

1345) Ritthausen u. Kreussler, Ueber die Verbreitung der Asparaginsäure und Glutaminsäure unter den Zersetzungsproducten der Proteïnstoffe. J. pr. Ch. N. F. III. 314. *136.*

1346) Roberts, Studies on Biogenesis. Philos. Transact. **164**. 465 (1874). *296.*

1347) Roberts, On the digestive ferment. Lumleian lecture. Proc. Roy. Soc. London 1880. 26. *121.*

1348) Roberts, On the estimation of the amylolytic and proteolytic activity of pancreatic extracts. Proceed. Royal Soc. **32**. 145 (1881). *127. 230.*

1349) Robertson, Notes on rennet and on the coagulation of milk; cit. n. Edmund's, Journ. of phys. XIX. 466 (1895). *262.*

1350) Robiquet, Quelques expériences sur l'émulsine. Journ. Pharm. Chim. **24** (1838). 196. *270.*

1351) Robiquet, Le principe qui dans les amandes, possède la singulière propriété de réagir sur l'amygdaline (Synaptase). Journ. Pharm. et Chim. **24**. 326 (1838). *273.*

1352) Robiquet et Boutron-Chalard, Nouvelles expériences sur les amandes amères et sur l'huile volatile qu'elles fournissent. Ann.

Chim. Phys. (2.) **44**. 352 (1830). *270.*
1353) Röden, Ueber den Einfluss des Blutserums auf die Gerinnung der Milch mit Lab. Maly's Jb. XVII. 160 (1887). *43. 184.*
1354) Röhmann, Ueber saure Harngährung. Z. phys. Ch. V. 103. *320.*
1355) Röhmann, Ueber Secretion und Resorption im Dünndarm. Pflüg. Arch. **41**. 424. *232. 261.*
1356) Röhmann, Zur Kenntniss des diastatischen Ferments der Lymphe. Pflüg. Arch. **52**. 157. *236.*
1357) Röhmann, Ueber die Verzuckerung von Stärke durch Blutserum. Chem. Ber. **25**. 3654. *236.*
1358) Röhmann, Zur Kenntniss der Isomaltose. Cbl. med. Wiss. **1893**. 849. *236.*
1359) Röhmann, Ueber Glucase. Chem. Ber. 3252 (1894). *249.*
1360/61) Röhmann, Zur Kenntniss der bei der Trypsinverdauung aus dem Caseïn entstehenden Producte I und II. Chem. Ber. **30**. 1978; **31**. 2188. *136.*
1362) Röhmann, Vhdlg. d. V. Physiol. Congresses. Turin 1901. *262.*
1363) Röhmann u. Bial, Ueber den Einfluss der Lymphagoga auf die diastatische Wirkung der Lymphe. Pflüg. Arch. **55**. 419. *236.*
1364) Röhmann u. Lappe, Die Lactase des Dünndarms. Chem. Ber. **28**. 2506 (1895). *265.*
1365) Röhmann u. Spitzer, Die Oxydationswirkung thierischer Gewebe. Chem. Ber. **28**. 567 (1895). *348. 352.*
1366) Roeser, De la formation d'aldéhyde dans la fermentation alcoolique. Ann. Pasteur VII. 41 (1893). *314.*
1367) Rosenberg, Ueber den Einfluss des Pankreas auf die Resorption der Nahrung. Pflüg. Arch. **70**. 371. *120.*
1368) Rosenheim, Krankheiten der Speiseröhre und des Magens. **1891**. *152.*
1369) Rosenheim, Untersuchungen über Bindung der Salzsäure nebst Beitrag zur Methodik der quantitativen Bestimmung der freien Salzsäure. Cbl. f. klin. Med. 1891. 729. *110.*
1370) Rosetti, Cynarase, das coagulirende Enzym der Cynara Carduncùlus L. (Artischocke). Chem. Cbl. **1899**. I. 131. *187.*
1371) Rossbach, Papayotin, ein gutes Lösungsmittel für diphtherische und croupöse Membranen. Berl. klin. Woch. **1881**. 132. *152.*
1372) Rossbach, Physiologische und therapeutische Wirkungen des Papayotin und Papaïn. Z. f. klin Med. **1883**. 527. *150. 152.*
1373) Roth, Zur Frage der Pepsinabsonderung im kranken Magen. Z. f. klin. Med. **39**. 1 (1900). *99.*
1374) Roussy, Recherches cliniques et expérimentales sur la pathogénie de la fièvre. Dtsch. med. Woch. **1889**. 874. *67.*
1375) Roy, (Papaïn). Glasgow Med. Journ. **1874**. *150.*
1376) Rywosch, Ueber den Einfluss des Blutextractes auf die Glykolyse im Blut. Cbl. f. Phys. XI. 495 (1897). *360.*

1377) Sacharoff, Das Eisen als das thätige Princip der Enzyme. Jena 1902. *20.*
1378/79) Sachs, Ueb. d. Auftreten der Stärke bei der Keimung ölhaltiger Samen. — Zur Keimungsgeschichte der Dattel. Botan. Ztg. **1859**. 178; **1862**. 242. *239. 288.*
1380) Sachs, Zur Kenntniss des Kreuzspinnengiftes. Hofm. Beitr. II. 125 (1902). *161.*
1381) Sachs, Ueber Antipepsin. Fortschr. d. Med. **20**. 425 (1902). *104.*

1382) Sahli, Ueber das Vorkommen von Pepsin und Trypsin im normalen menschlichen Harn. Pflüg. Arch. **36**. 224. *102. 122.*

1383) Salaskin, Ueb. d. Bildung des Leucinimids. Z. phys. Ch. **32**. 592 (1901). *117. 142.*

1384) Salaskin, Ueber das Vorkommen des Albumosen spaltenden Ferments in reinem Darmsaft. Z. phys. Ch. **35**. 419 (1902). *132.*

1385) Salkowski, Cbl. Med. Wiss. **1876**. 29. *125.*

1386) Salkowski, Weitere Beiträge zur Harnstoffbildung. Z. phys. Ch. VII. 93. *357.*

1387) Salkowski, Ueber das Verhalten des Pankreasferments bei der Erhitzung. Virch. Arch. **70**. 158. *37. 125.*

1388) Salkowski, Ueber das Verhalten des Pankreasferments bei der Erhitzung. Cbl. med. Wiss. **1877**. 606. *251.*

1389) Salkowski, Zur Kenntniss pathologischen Speichels. Virch. Arch. **109**. 358 (1887). *229.*

1390) Salkowski, Ueber die antiseptische Wirkung des Chloroformwassers. Dtsch. med. Woch. **1888**. Nr. 16. *39.*

1391) Salkowski, Ueber die Bindung der Salzsäure durch Amidosäuren. Virch. Arch. **127**. 501. *110.*

1392) Salkowski, Ueber den Verbleib des Phosphors bei der Verdauung des Caseïns. Cbl. med. Wiss. **1893**. 385. *118.*

1393) Salkowski, Ueber das Oxydationsferment der Gewebe. Cbl. med. Wiss. **1894**. 913. *353.*

1394) Salkowski, Zuckerbildung und andere Fermentationen in der Hefe. Spaltungen durch Fermentwirkungen auf Cellulose u. andere Kohlehydrate. Z. f. ph. Ch. XIII. 506. *143. 156.*

1395) Salkowski, Ueber Autodigestion der Organe. Z. f. klin. Med. XVII, Suppl. 77. *143. 156.*

1396) Salkowski, Ueb. d. erste Product d. Verdauung d. Caseïns. Z. phys. Ch. **27**. 297 (1899). *118.*

1397) Salkowski, Ueber das Invertin der Hefe. Z. phys. Ch. **31**. 306 (1901). *252.*

1398) Salkowski, Zur Kenntniss des Oxydationsferments der Gewebe. Virch. Arch. **147**. 1. *353. 361.*

1399) Salkowski, Kleinere Mittheilungen physiologisch-chemischen Inhalts. Pflüg. Arch. **56**. 339. *234.*

1400) Salkowski u. Hahn, Ueber das Verhalten des Phosphors im Caseïn bei der Pepsinverdauung. Pflüg. Arch. **59**. 225. *118.*

1401) Salomon, Zur Physiologie der Xanthinkörper. Du Bois' Arch. f. Phys. **1881**. 361. *143.*

1402) Salvioli, Ueber die Wirkung der diastatischen Fermente auf die Blutgerinnung. C. med. Wiss. **1885**. 913. *68.*

1403) Sanfelice, Ueber die pathogene Wirkung der Blastomyceten. Z. f. Hyg. XXI. 32. 394 (1896). *331.*

1404) Sanguinetti, Contribution à l'étude de l'Amylomyces Rouxii de la levure chinoise et des moisissures de l'amidon. Ann. Pasteur XI. 264 (1897). *223.*

1405/07) Sarthou, Journ. Pharm. Chim. (6.): Sur une oxydase retirée du Schinus Molle. La schinoxydase (XI. 482). — Sur quelques propriétés de la schinoxydase (XII. 104). — Contribution à l'étude de la nature des oxydases (XIII. 464). *368.*

1408) Saussure, Ueber Zuckerbildung beim Keimen des Weizens. Poggendorff's Ann. **32**. 194 (1834). *202.*

1409) Sawjalow, Zur Theorie der Eiweissverdauung. Pflüg. Arch. **85**. 171 (1901). *159.*

1410) Schäffer, Beitr. z. Kenntniss d. von einigen Schimmelpilzen hervorgebr. Enzyme. Diss. Erlangen 1900. *155. 222.*

1411) Schäffer, Ueber das Caseïn und die Wirkung des Labferments. Landw. Jb. d. Schweiz. **1887.** *183.*

1412) Schäffer u. Böhm, Ueber den Einfluss des Arsen auf die Wirkung der ungeformten Fermente. Würzburg. Phys. med. Soc. N. F. III. 238. (1872.) *227. 337.*

1413) Schaer, Apothekerztg. **1894.** 749. *348. 364.*

1414) Schaer, Die neuere Entwicklung der Schönbein'schen Untersuchungen über das Oxydationsferment. Z. f. Biol. **37.** 321 (1899). *347. 364.*

1415) Schardinger, Ueber eine neue optisch active Modification der Milchsäure, durch bacterielle Spaltung des Rohrzuckers erhalten. Monatsh. f. Chem. XI. 545 (1890.) *297.*

1416) Scheermesser, Zur Kenntniss der peptischen Verdauung des Leims. Z. phys. Ch. **37.** 364 (1903). *119.*

1417) Scheibler u. Mittelmeier, Studien über die Stärke. II. Ueber das Gallisin und dessen Entstehungsweise. Chem. Ber. **24.** 303 (1891). *216.*

1418) Scheurer-Kestner, Sur un ferment digestif qui se produit pendant la panification. C. R. **90.** 369. *148.*

1419) Schierbeck, Ueber den Einfluss der Kohlensäure auf die diastatischen u. peptonbildenden Fermente im thierischen Organismus. Scand. Arch. f. Physiol. III. 344. *38. 108. 125. 126. 226.*

1420) Schiff, Leç. de physiol. de la digestion. I. Berlin 1876. *106. 229.*

1421) Schifferer, Die nicht krystallisirb. Producte der Einw. von Diastase auf Stärke. Diss. Basel 1892. *213.*

1422) Schlesinger, Zur Kenntniss der diastatischen Wirkung des menschlichen Speichels, nebst einem kurzen Abriss der Geschichte dieses Gegenstandes. Virch. Arch. **125.** 167. *40. 225. 226. 227.*

1423) Schmidt, Gährungsversuche. Liebig's Ann. **61.** 168 (1847). *323.*

1424) Schmidt, Ueber das Wesen des Verdauungsprocesses. Liebig's Ann. **61.** 311. *109.*

1425) Schmidt, Zur Kenntniss der Bildung des Allylsenföls. Chem. Ber. X. 187 (1877). *279.*

1426) Schmidt, (Emulsin). Diss. Tübingen 1871. *274.*

1427) A. Schmidt, Beiträge zur Kenntniss der Milch. Dorpat 1871. *173.*

1428) A. Schmidt, Neue Untersuchungen über die Faserstoffgerinnung. Pflüger's Arch. VI. 508 (1872). *188. 347.*

1429) A. Schmidt, Ueber die Beziehung der Faserstoffgerinnung zu den körperlichen Elementen des Blutes. Pflüg. Arch. XI. 291. 515 (1875). *182.*

1430) A. Schmidt, Ueber Beziehungen des Kochsalzes zu thierischen Fermentationsprocessen. Pflüg. Arch. XIII. 93 (1876). *107. 188.*

1431) A. Schmidt, Weitere Beiträge zur Blutlehre. Wiesbaden 1895. *189.*

1432) Schmidt-Nielsen, Zur Kenntniss der Autolyse des Fischfleisches. Hofm. Beitr. III. 266 (1902). *145.*

1433) Schmitt, Action de la sacharine. Soc. Biol. 53. 373 (1901). *108.*

1434/35) Schmiedeberg, Ueber Oxydationen u. Synthesen im Thierkörper. — Ueber Spaltungen u. Synthesen im Thierkörper. Arch. f. exp. Pathol. XIV. 288. 379 (1881). *144. 286. 348.*

1436) Schmiedeberg, Ueber die Elementarformeln einiger Eiweiss-

körper. Arch. exp. Path. **39.** 1 (1897). *194.*

1437) Schmulewitsch, Ueb. d. Verhalten der Verdauungssäfte zur Rohfaser der Nahrungsmittel. Bull. acad. St. Pétersbourg **1879.** 549. *243.*

1438) Schnappauff, Beitr. z. Physiol. d. Pepsins. Diss. Rostock 1888. *69.*

1439) Schneegans, Zur Kenntniss der ungeformten Fermente (Enzyme). Journ. d. Pharm. von Els.-Lothr. **1896.** 17. *277.*

1440) Schneegans u. Gérock, (Gaultherase). Arch. de Pharm. **232.** 437 (1894). *277.*

1441) Schönbein, Ueber die katalytische Wirksamkeit organischer Materien und deren Verbreitung in der Pflanzen- und Thierwelt. J. pr. Ch. **89.** 334. *44.*

1442) Schumow-Simanowski, Ueb. d. Magensaft u. d. Pepsin bei Hunden. Arch. exp. Path. **33.** 336. *95.*

1443) Schorlemmer, Unters. üb. d. Grösse d. Eiweiss verdauenden Kraft des Mageninhalts Gesunder wie Magen- u. Darmkranker etc. Arch. f. Verdauungskrankh. VIII. (1902.) 299. 447. 647. *109.*

1444) Schröder, Ueber Filtration der Luft in Beziehung auf Fäulniss u. Gährung. Liebig's Ann. **117.** 273 (1861). *324.*

1445) Schröder u. v. Dusch, Ueber Filtration der Luft in Beziehung auf Fäulniss und Gährung. Lie-Ann. **89.** 232 (1854) *324.*

1446) Schuhmacher, (Hefe). Wien. acad. Sitzb. Math. nat. Kl. **70.** I. 157 (1874). *329.*

1447) Schulz, Zur Lehre von der Arzneiwirkung. Virch. Arch. **108.** 427 (1887). *337.*

1448) Schulz, Ueber Hefegifte. Pflüger's Arch. **42.** 517 (1888). *337.*

1449/51) E. Schulze, Landw. Jb.: Untersuchungen üb. einige chemische Vorgänge bei der Keimung der gelben Lupine (V. 821). — Ueber einige Producte der Eiweisszersetzung in Kürbiskeimlingen (VI. 681). — Ueber den Eiweissumsatz im Pflanzenorganismus. (IX. 689). *147.*

1452) E. Schulze, Ueber Maltose. Chem. Ber. VII. 1047. *215.*

1453) Schulze u. Likiernik, Ueber die Constitution des Leucins. Chem. Ber. **24.** 669. *135.*

1454) Schulze u. Likiernik, Ueber die Bildung von Harnstoff bei der Spaltung des Arginins. Chem. Ber. **24.** 2701 (1891). *138.*

1455/56) Schulze u. Steiger, Ueber Arginin (Z. phys. Ch. XI. 43). — Ueber einen neuen stickstoffhaltigen Bestandtheil der Keimlinge von Lupinus luteus (Chem. Ber. XIX. 1177). *138.*

1457/58) Schulze u. Winterstein, Ueber die Bildung von Ornithin bei der Spaltung des Arginins u. über die Constitution dieser beiden Basen (Z. ph. Ch. **26.** 1). — Ueber ein Spaltungsproduct des Arginins (Chem. Ber. **30.** 2879). *138.*

1459) Schulze u. Winterstein, Ueber die Constitution des Arginins. Chem. Ber. **32.** 3191 (1899). *138.*

1460) Schulze u. Winterstein, Beitrag zur Kenntniss des Arginins und Ornithins. Z. phys. Ch. **34.** 128 (1902). *138.*

1461) Schulze u. Winterstein, Ueb. d. bei d. Spaltung der Eiweisssubstanzen entstehenden basischen Producte. Asher-Spiro, Ergebnisse d. Physiol. (1.) I. 32 (1902). *137.*

1462) Schultz-Schultzenstein, Einfluss von Kaffee und Thee auf künstliche Verdauung. Z. phys. Ch. XVIII. 131 (1894). *41. 108.*

1463) Schumm, Ueb. menschl. Pankreassecret. Z. phys. Ch. **36.** 292 (1902). *125.*

1464) **Schunck, Ueber die Einwirkung des Krapp-Ferments auf Zucker.** J. pr. Ch. **63.** 222 (1854). *282.*

1465) **Schunck, Alkoholische Gährung ohne Hefezellen.** Chem. Ber. **31.** 309 (1898). *320.*

1466) **Schur, Ueber Hämolyse.** Hofm. Beitr. III. 89 (1902). *162.*

1467) **E. Schütz, Methode zur Bestimmung der relativen Pepsinmengen.** Z. phys. Ch. IX. 577 (1887). *56. 106.*

1468) **J. Schütz, Z. Kenntn. d. quantit. Pepsinwirkung.** Z. phys. Ch. **30.** 1 (1900). *56. 106.*

1469/71) **Schützenberger,** Bull. de l. soc. de Paris: Recherches sur l'albumine et les matières albuminoïdes (XXIII. 161. 193. 216. 242. 385. 433). — Deuxième mémoire sur l'albumine et les matières protéiques (XXIV. 2). — Recherches sur la constitution des matières albuminoïdes (XXIV. 145). *112.*

1472) **Schützenberger, Die Gährungserscheinungen.** Intern. wiss. Bibliothek 1875. *2. 10. 39. 156. 250. 282. 288.*

1473) **Schwann, Ueber das Wesen des Verdauungsprocesses.** Müller's Arch. **1836.** 90. *94.*

1474) **Schwann, Ueber das Wesen des Verdauungsprocesses.** Poggendorff's Ann. **38.** 359. *225.*

1475) **Schwann,** Poggendorff's Ann. **41.** 184 (1837). *322.*

1476) **Schwarz, Ueber Bildung von Harnstoff aus Oxaminsäure im Thierkörper.** Arch. exp. Pathol. **41.** 60 (1898). *358.*

1477) **Schwarz, Ueb. Verbindungen von Eiweisskörpern mit Aldehyden.** Z. phys. Ch. **31.** 460 (1901). *127.*

1478) **Schwarzer, Ueber die Umwandlung der Stärke durch Malzdiastase.** J. prakt. Ch. N. F. I. 212 (1870). *203. 205.*

1479) **Schweitzer, Zur Kenntniss der coffein- u. theobrominhaltigen Glykoside in den Pflanzen.** Pharm. Ztg. **43.** 380. Chem. Cbl. **1898.** II. 47. *283.*

1480) **Schwiening, Ueber fermentative Processe in den Organen.** Virch. Arch. **136** (1894). 444. *143. 234. 352.*

1481) **Sebelien, Ueber Peptone und ähnliche Substanzen.** Chem. Cbl. 1890. I. 171. *118.*

1482) **Seegen, Ueber die Umwandlung von Glykogen in Traubenzucker durch Speichel- u. Pankreasferment.** Cbl. med. Wiss. **1876.** 849. *225.*

1483) **Seegen, Ueber die Umsetzung von Zucker im Blut.** Cbl. f. Phys V. Nr. 25/26 (1891). *360.*

1484) **Seegen, Die Zuckerumsetzung im Blute mit Rücksicht auf Diabetes mellitus.** Wien. klin. Woch. **1892.** 207. *360.*

1485) **Seegen u. Kratschmer, Beitrag zur Kenntniss der saccharificirenden Fermente.** Pflüg. Arch. XIV. 593. *203. 233.*

1486) **Segelcke u. Storch,** Ugeskrift for Landmaend. **1870** No. 15, cit. n. Fuld, *182.*

1487) **Selmi,** J. pharm. et chim. (3.) IX. 265 (1896). *173.*

1488) **Sewall, The development and regeneration of the gastric glandular epithelium during foetal life and after birth.** Journ. of physiol. I. 321. *98.*

1489) **Shearmann, Lebendige Thierchen im menschlichen Harn.** Schmidt's Jahrb. 55. 276. *290.*

1490) **Shokiri-Nagoyo, Ueb. d. Einwirkung von caust. Alkali auf Pepsin.** Diss. Würzburg 1900. *104.*

1491) **Shore and Tebb,** Journ. of physiol. XIII. 19. *250.*

1492) **Siegfried, Zur Kenntniss der Phosphorfleischsäure.** Z. f. phys. Ch. **21.** 360. *133.*

1493) **Siegfried**, Ueber Fleischsäure. Du Bois' Arch. f. Phys. **1894**. 401. *133*.

1494) **Siegfried**, Ueber Antipepton II. Z. phys. Ch. 35. 164 (1902). *134*.

1495) **Siegfried**, Zur Frage nach der Existenz des Lysatinins. Z. phys. Ch. **35**. 192 (1902). *138*.

1496) **Sigmund**, Ueber fettspaltende Fermente im Pflanzenreiche. Monatsh. f. Chemie XI. 272 (1890). *289*.

1497) **Sigmund**, Maly's Jb. **1902**. 596. *289*.

1498) **Simaček**, Ueber die anaërobe Athmung des Pankreas und die Isolirung eines glykolytischen Enzyms aus demselben. C. f. Phys. XVII. No. 1 (1903). *321*.

1499) **Simon**, Ueb. d. ätherische Oel des schwarzen Senfs und das Oel des Löffelkrauts, über die Ammoniakverbindungen dieser beiden Oele, über Bussy's u. einige andere Bestandtheile des schwarzen Senfs. Poggendorff's Ann. 50. 377 (1840). *279*.

1500) **Simon**, Unters. üb. d. Lösungsvorgänge bei der croupösen Pneumonie. Arch. klin. Med. **70**. 604 (1901). *144*.

1501) **Sittmann**, Papain bei Erkrankungen des Magens. Münch. med. Wochsch. **1893**. 548. *151*. *152*.

1502) **Slis**, Untersuch. v. Pepsin. Maly's Jb. **1900**. 377. *107*.

1503) **Slowtzoff**, Zur Kenntniss der pflanzlichen Oxydasen. Z. phys. Ch. **31**. 227 (1900/01). *351*.

1504) **Smith**, Spaltung des Aetherschwefels durch Säuren, Fermente und Keimung. Z. phys. Ch. XII. 432 (1886). *278*.

1505) ***Soave**, Contribut. allo studio della funzione fisiologica dei fermenti della plante. Le stazioni sperimentali agraric. 32. 553 (1899). *148*.

1506) **Söldner**, Die Salze der Milch und ihre Beziehungen zu dem Verhalten des Caseïns. Landw. Versuchsstation. 35. 351. *180*.

1507) **Solera**, Untersuchungen über den objectiven Rhodannachweis im Speichel. Untersuch. über die chem.-physiol. Wirkung des menschlichen Speichels. — Ueber das verschiedene Verhalten einzelner Stärkesorten zur Speicheldiastase. Maly's Jb. **1879**. 235. *228*.

1508) **Sommaruga**, Ueber Stoffwechselproducte von Microorganismen. Z. f. Hyg. XVIII. 441 (1894). *290*.

1509) **Soxhlet**, Beiträge zur physiologischen Chemie der Milch. J. f. pr. Ch. N. F. VI. 1. *173*.

1510) **Soxhlet**, Die Darstellung haltbarer Labflüssigkeit. Milchztg. **1877**. Nr. 37/38. *182*.

1511) **Spallanzani**, Versuche über das Verdauungsgeschäft. Leipzig 1785. *93*.

1512) **Spatzier**, Ueber das Auftreten u. die physiologische Bedeutung des Myrosins in der Pflanze. Jb. f. wiss. Bot. 25. 39 (1893.) *277*. *279*.

1513) **Spiro**, Ueber Nachweis und Vorkommen des Glycocolls. Z. phys. Ch. **28**. 174 (1899) *113*.

1514) **Spriggs**, On a new methode of observing peptic activity. J. of phys. 28. V (1902). *106*.

1515) **Spitzer**, Die zuckerzerstörende Kraft des Blutes und der Gewebe. Pflüger's Arch. **60**. 303. *348*. *361*.

1516) **Spitzer**, Die zuckerzerstörende Kraft des Blutes und der Gewebe. Berl. klin. Woch. **1894**. 949. *347*. *361*.

1517) **Spitzer**, Die Bedeutung gewisser Nucleoproteïde für die oxydative Leistung der Zelle. Pflüger's Arch. **67**. 615. *20*. *357*.

1518) **Spitzer**, Weitere Beobachtungen über die oxydativen Leistungen thierischerGewebe. Pflüger's Arch. **71**. 596 (1898). *348. 358.*

1519) **Spitzer**, Die Ueberführung von Nucleinbasen in Harnsäure durch die sauerstoffübertragende Wirkung von Gewebsauszügen. Pflüger's Arch. **76**. 192 (1899). *354.*

1520) **Ssobolew**, Ueber die Structur der Bauchspeicheldrüse. Cbl. f. Path. **1900**. 202. *363.*

1521) **Stade**, Untersuchungen über das fettspaltende Ferment des Magens. Hofm. Beitr. III. 291 (1903). 57. *287.*

1522) **Stadelmann**, Ueber Fermente im normalen Harn. Z. f. Biol. **24**. 226. *122. 134.*

1523) **Stadelmann**, Bildung von Ammoniak bei Pankreasverdauung von Fibrin. Z. f. Biol. **24**. 266. *102.*

1524) **Stadelmann**, Ueber das beim tiefen Zerfall der Eiweisskörper entstehende Proteïnochromogen, den die Bromreaction gebenden Körper. Z. f. Biol. **26**. 491. *140.*

1525) **Staedeler**, Kleine Mittheilungen. 1) Ueber die Wirkung des menschlichen Speichels auf Glucoside. Journ. prakt. Ch. **72**. 250 (1857). *272.*

1526) **Stirling**, On the ferments of the digestive tract in fishes. Journ. anat. and phys. XVIII. 426 (1884). *100.*

1527) **Stoklasa** u. **Czerny**, Isolirung des die anaërobe Athmung der Zelle der höher organisirten Pflanzen u. Thiere bewirkenden Enzyms. Chem. Ber. **36**. 622 (1903). *75. 301.*

1528) **Stoklasa, Jelinek** u. **Czerny**, Isolirung eines die Milchsäuregährung im Thierorganismus bewirkenden Enzyms. C. f. Phys. XVI. 712 (1903). *301.*

1529) **Stoklasa, Jelinek** u. **Vitek**, Der anaërobe Stoffwechsel der höheren Pflanzen. Hofmeister's Beitr. III. 460. (1903.) *261. 321.*

1530) **Stohmann**, Ueber den Wärmewerth der Bestandtheile der Nahrungsmittel. Z. f. Biol. **31**. 385. *11.*

1531) **Stone** u. **Wright**, Bemerkungen über Takadiastase. Journ. of the Amer. chem. Soc. XX. 637. Maly's Jb. **1898**. 720. *223.*

1532) **Strauss**, Ueber den Einfluss der verschiedenen Zuckerarten auf die Zuckerausscheidung. Berl. klin. Woch. **1898**. No. 18. *266.*

1533) **Struve**, Ueber die Einwirkung des activen Sauerstoffs auf Pyrogallussäure. Liebig's Ann. **163**. 160. *364.*

1534) **Stutzer**, Beeinträchtigt Fahlberg's Saccharin die Verdaulichkeit der Eiweissstoffe durch Magensaft? Landwirtsch. Versuchsstat. 38. 63 (1891). *108.*

1535) **Stutzer**, Versuche über die Einwirkung verschiedener organischer Säuren bei der Verdauung der Eiweissstoffe. Landwirtsch. Versuchstat. **38**. 257 (1891). *107.*

1536) **O'Sullivan**, On the action of malt-extract on starch. Journ. chem. Soc. 1876. II. 125. *205. 215.*

1537) **O'Sullivan**, The hydrolytic functions of yeast. Journ. chem. Soc. **61**. 593 (1892). *252.*

1538) **O'Sullivan**, On the presence of invertase in plants of the Gramineae. I. Proc. Chem. Soc. XVI. 61. *261.*

1539) **O'Sullivan** and **Tompson**, Invertase: a contribution to the history of an enzyme or unorganised ferment. Journ. chem. Soc. **57**. 834 (1890). *251. 253. 254.*

1540) **Sundberg**, Ein Beitrag zur Kenntniss des Pepsins. Z. phys. Ch. IX. 319 (1885). *103.*

1541) Swain, Weiteres über Skatosin. Hofm. Beitr. III. 442 (1903). *141.*
1542) v. Świecicki, Untersuchung über Bildung und Ausscheidung des Pepsins bei den Batrachiern. Pflüg. Arch. XIII. 444 (1876). *97.*
1543) Sykes and Mitchell, The estimation of the diastatic power of malt. Analyst. 21. 122 (1896). *205.*
1544) Sympson, On the glycolytic ferment. Brit. med. Journ. **1893.** I. 113. *363.*
1545) Szumowski, Sur la fixation des enzymes par la fibrine. Arch. de phys. **1898.** 160. *63.*
1546) Szydlawski, Ueber das Verhalten des Labenzyms im Säuglingsmagen. Prag. med. Woch. **1892.** 365. *174. 180.*

1547) *Takahashi, Enzyme der japanischen Sakehefe. Bull. Coll. Agricult. Tokyo. IV. 395 (1902). *306.*
1548) *Takahashi, Alkoholgährung in Phanerogamen. Bull. Coll. Agricult. Tokyo V. *319.*
1549) Takamine, Diastatische Substanzen aus Pilzculturen. Maly's Jb. **1899.** 721. *223.*
1550) Tamman, Die Reactionen der umgeformten Fermente. Z. phys. Ch. XVI. 271 (1892). *42. 52. 55. 255. 275.*
1551) Tangl, Sitzb. Wiener Akad. Math. naturw. Kl. 92. 72. *221.*
1552) Tanret, Sur les hydrates de carbone du topinambour. C. R. **117.** 50 (1893) *316.*
1553) Tanret, Sur la picéine. C. R. **119.** 80 (1894). *275.*
1554) Ch. et G. Tanret, Sur le rhamninose. Bull. Soc. Chim. (3.) **21.** 1065 (1899). *281.*
1555) Tappeiner, Untersuchungen üb. die Gährung der Cellulose, insbesondere über deren Lösung im Darmkanal. Z. f. Biol. XX. 52 (1884). *244.*
1556) Tappeiner, Mittheilung über die Wirkung des Fluornatrium. Arch. f. exp. Path. **27.** 108 (1890). *40.*
1557) Tasully, Ueber die Enzyme im Harn. Maly's Jb. **1894.** 289. *102. 122.*
1558) Tatarinoff, Zur Kenntniss der Glutinverdauung. Cbl. f. med. Wiss. **1877.** 275. *119.*
1559) Tate, The Fermentation of dextrose, rhamnose and mannitol by a levolactic ferment. Journ. chem. Soc. **63.** 1263 (1893). *298.*
1560) Taylor, Ueber das Vorkommen von Spaltungsproducten der Eiweisskörper in der degenerirten Leber. Z. phys. Ch. **34.** 580 (1902). *145.*
1561) Tebb, On the transformation of maltose to dextrose. Journ. of physiol. XV. 421 (1893). *232. 250.*
1562) Tebb, Hydrolysis of glycogen. Journ. of physiol. **22.** 427 (1898). *215. 234.*
1563) Thénard, Sur la fermentation vineuse. Ann. de chimie. **46.** 294. *156.*
1564) Thibault, Prépar. officin. de pepsine. Thèse. Paris 1902. *108.*
1565) Thibierge, De la graine de moutarde noire (sinapis nigra). Journ. de Pharm. V. 439 (1819). *277.*
1566) Thierfelder, Zur Kenntniss der Caseïnpeptone. Z. phys. Ch. X. 577. *117.*
1567) Thomé, Ueb. d. Vorkommen des Amygdalins u. d. Emulsins in den bittern Mandeln. Botan. Ztg. **1865.** 240. *272.*
1568) Thomson, Les semences de moutarde. Journ. de Pharm. V. 448 (1819). *277.*
1569) Thomson, Ueber die Natur und die chemischen Wirkungen der Essigmutter. Liebig's Ann. **83.** 89 (1852). *372.*
1570) Thomson u. Richardson, (Emulsin). Ann. de Pharm. **29.** 180 (1839). *273.*

1571) **Thylmann u. Hilger**, (Alkoholgährg.). Arch. f. Hyg. VIII. 451. *312.*

1572) **Tiedemann u. Gmelin**, Verdauung nach Versuchen. Heidelberg 1826. *140.*

1573) **van Tieghem**, Sur la fermentation ammoniacale. C. R. 58. 210 (1864). *291.*

1574) **van Tieghem**, Inversion du sucre de canne par le pollen. Bull. soc. bot. de France. 33. 216 (1886). *261.*

1575) **Timpe**, Ueber die Beziehungen der Phosphate u. des Caseins zur Milchsäuregährung. Arch. f. Hyg. XVIII. 1 (1893). *299. 300.*

1576) **Tischutkin**, Ueber die Rolle der Mikroorganismen bei der Ernährung der insektenfressenden Pflanzen. Bot. Cbl. 50. 304 (1892). *154.*

1577) **Tolomei**, (Essiggährg.). Koch's Jb. Gährgsorg. 1890. 139. *373.*

1578) **Tolomei**, Fermento solubile nel vino. Atti d. R. Acad. d. Lincei Ser. 5. Vol. 5. 1896. Maly's Jb. 1896. 913. *365.*

1579) **Traube**, Verhalten der Alkoholhefe in O-freien Medien. Chem. Ber. VII. 885 (1874). *319.*

1580) **Traube**, Chem. Ber.: Ueber Activirung des Sauerstoffs (XV. 659. 2421. 2434); XVI, 123). — Ueb. das Verhalten des nascirenden Wasserstoffs gegen Sauerstoffgas (XVI, 1201). *347. 354.*

1581) **Traube**, Gesammelte Abhandlungen. Berlin 1899. *347.*

1582) **Treyer**, De l'action de quelques substances antiseptiques sur les ferments solubles. Arch. d. phys. 1898. 672. *40.*

1583) **Trumpp**. Z. f. Hyg. 33. 70. *167.*

1584) **Tschermak**, Notiz üb. d. Verdauungsferm. d. menschl. Galle. C. f. Phys. XVI. 329 (1902). *122.*

1585) ***Tussac**, Flore médic. des Antilles. Bd. III. *152.*

1586) **v. Udránsky**, Stoffwechsel der Bierhefe. Z. phys. Ch. XIII. 539. *313.*

1587) **Uffelmann**, Beobachtungen und Untersuchungen an einem gastrotomirten fiebernden Knaben. Arch. f. klin. Med. XX. 535. *119.*

1588) **Umber**, Z. Kenntniss des Caseins. Z. phys. Ch. 25. 258 (1898). *114.*

1589) **Umber**, Zur Lehre von der Glykolyse. Z. klin. Med. 39. 12 (1900). *363.*

1590) **Umber**, Ueb. d. ferment. Spaltung der Nucleoproteide. Z. f. klin. Med. 43. Heft 4/5 (1901). *108 142.*

1591) **Umber**, Ueber autolytische Vorgänge in Exsudaten. Münch. med. Woch. 1902. Nr. 28. *145.*

1592) **Vernon**, The conditions of action of trypsin on fibrin. Journ. of physiol. 26. 405 (1901) *57. 125.*

1593) **Vernon**, Conversion of pancreatic zymogens into enzymes. Journ. of physiol. 27. 288 (1901). *124. 128.*

1594) **Vernon**, Pancreatic diastase and its zymogen. J. of phys. 28. 137. (1902). *232.*

1595) **Vernon**, The differences of action of various diastases. Journ. of phys. 28. 156 (1902). *230.*

1596) **Vernon**, The conditions of action of pancreatic secretion. J. of phys. 28. 375 (1902). *126. 129. 130.*

1597) **Vernon**, Pancreatic zymogens and prozymogens. Journ. of phys. 28. 448 (1902). *128.*

1598) **Vetturini u. Cotta**, Beitrag zum Studium der Pepsine des Handels. Bollet. Chim. Pharm. 39. *102.*

1599) **Vincent et Delachanel**, Préparation biologique du lévulose

au moyen de la mannite. C. R. **125**. 716 (1897). *375*.

1600/01) Vines, The proteolytic enzyme of nepenthes. I und II. Annals of botany XI. 563 (1897). XII. 545 (1898). *154*.

1602) *Vines, proteolytic enzymes iu plants. *154*.

1603) Vines, On the digestive ferment of nepenthes. Journ. of anat. and phys. XI. 124. *153*.

1604) Vignal, cit. n. Green. Ann. of bot. VII. 120. *261*.

1605) Virchow, Zur Chemie des Pankreas. Virch. Arch. VII. 580. *135*.

1606) Vogel, Unters. üb. Muskelsaft. Arch. f. kliu. Med. 72. 291. *144*.

1607) Vohl, Ueber die Qualität der aus dem Inosit entstehenden Milchsäure. Maly's Jb. **1876**. 274. *297*.

1608) Voit, Ueber das Verhalten der Galactose beim Diabetiker. Z. f. Biol. 29. 149 (1892). *315*. *329*.

1609/10) Volhard, Ueber d. fettspalt. Ferm. d. Magens. Z. klin. Med. **42**. 414; **43**. 397 (1901). *287*.

1611) Vollrath, Schwefelcyanallyl, ein Bestandtheil der Wurzel von Reseda odorata. Arch. d. Pharm. (II.) **148**. 156 (1871). *279*.

1612) Wagner, Die Reaction zwischen Kaliumpermanganat und Salzsäure unter dem Einflusse von Katalysatoren. Z. f. physikal. Ch. 28. 33 (1899). *50*.

1613) Walther, Ueber Fick's Theorie der Labwirkung und Blutgerinnung. Pflüg. Arch. **48**. 529. *25*.

1614) Walther, Sécrétion pancréatique. Arch.scienc. biol. St. Petersbourg. VII. 1 (1899). *83*.

1615) Marshall Ward, On a lily disease. Annals of botany. II. 1888. *242*.

1616) Ward, Penicillium as a wood-destroying fungus. Ann. of botan. XII. 565 (1898). *242*.

1617) Marshall Ward and Dunlop, On some points in the histology and physiology of the fruits and seeds of rhamnus. Ann. of botan. I. 1 (1887). *281*

1618) Wasmann, De digestione animali. Diss. Berlin 1839. *94*.

1619) Wassermann, Hämolysine, Cytolysine und Präcipitine. Volkmann's klin. Vortr. Nr. 331. Leipzig 1902. *166*.

1620) Wassermann u. Kolle, Handb. der pathogenen Mikroorganismen. Jena 1902/03. *162*.

1621) Wasserzug, Sur la production de l'invertine chez quelques champignons. Ann. Pasteur I. 525 (1886). *260*.

1622) Wassilieff, Ueber die Wirkung von Calomel auf Gährungsprocesse und das Leben der Mikroorganismen. Z. phys. Ch. VI. 112 (1882). *40*.

1623) Watson, Notes on the effec of alcohol on saliva, and on the chemistry of digestion. Journ. chem. Soc. 35. 539 (1879). *40*. *227*.

1624) Weeg, Ueber Papaïn. Diss. Bonn. 1885. *151*.

1625) Wehmer, Ueber Citronensäure-Gährung. Sitzb. d. Berl. Acad. Math.-Phys. Kl. **1893**. 519. *374*.

1626) Weinland, Ueber die Lactase des Pankreas. Z. f. Biol. **38**. 607 (1899). *266*.

1627) Weinland, Z. Magenvdg. d. Haifische. Z. f. Biol. **41**. 35 (1901). *100*.

1628) Weinland, Ueber Kohlehydratzersetzung ohne Sauerstoffaufnahme bei Ascaris. Z. f. Biol. **42**. 55 (1901). *320*.

1629) Weinland, Ueber ausgepresste Extracte von Ascaris lumbricoides. Z. f. Biol. **43**. 86 (1902). *320*.

1630/31) **Weinland**, Ueber Antifermente. I und II. Z. f. Biol. **44**. 1. 46 (1902). *92*.

1632) **Weis**, Ueber die proteolytischen und ein eiweisscoagulirendes Enzym in keimender Gerste, Z. phys. Ch. **31**. 79 (1900). *148*. *187*.

1633) **Weiss**, Ueber die Bildung von Zucker aus Fett im Thierkörper. Z. phys. Ch. **24**. 542. *356*.

1634) **Wender**, Die Enzyme der Milch. Oesterr. Chem. Ztg. **1903**. 1. *142*.

1635) **Wenz**, Ueber das Verhalten der Eiweissstoffe bei der Darmverdauung. Z. f. Biol. XXII. 10 (1886). *113*. *115*.

1636) **Wermischeff**, Recherches sur les microbes acétifiants. Ann. Pasteur VII. 213 (1893). *372*.

1637) **Wertheim**, Ueber das flüchtige Oel der Alliaria officinalis. Liebig's Ann. 52. 52. *279*.

• 1638) **Widdicombe**, On the digestion of cane-sugar. J. of physiol. **28**. 174 (1902). *262*.

1639) **Wiesner**, (Hefe). Wien. acad. Sitzb. 59. II (1869). 495. *334*.

1640) **Wiesner**, (Gummiferment). Sitz. Wiener Acad. **92**. 1. 40 (1886). *241*.

1641) ***Wight**, Illustr. of Ind. Bot. II. 1850. *149*.

1642) **Wijsman**, La diastase considérée comme un mélange de maltase et de dextrinase. Recueil d. trav. chim. des Pays-Bas. IX. 1. *217*.

1643) **Wilde**, Ueber die Beeinflussung der Alexinwirkung. Arch. f. Hyg. **44**. 1 (1902). *171*.

1644) Cl. **Wildenow**, Z. Kenntn. d. pept. Verdauung d. Caseins. Diss. Bern 1893. *118*.

1645) Cl. **Wildenow**, Ueber Lysursäure und ihre Salze. Z. phys. Ch. 25. 523. *137*.

1646) **Will**, Lebensdauer getrockneter Hefe. Z. ges. Brauw. **1896**. 453. *305*.

1647) **Will u. Körner**, Zur Kenntniss der Bildnng des Senföls aus dem Samen des schwarzen Senfs. Liebig's Ann. **125**. 257 (1863). *278*.

1648) **Will u. Laubenheimer**, Ueber das Glucosid des weissen Senfsamens. Liebig's Ann. **199**. 162 (1879). *278*.

1649) **Windisch und Schellhorn**, Ueber das eiweissspaltende Enzym der gekeimten Gerste. Wsch. f. Brauerei. XVII. H. 24—29 (1900). *148*.

1650) **Wingrave**, Amylolytic ferments. Lancet. 1898. I. 1251. [illegible]

1651) **Winternitz**, Einfluss der Milch auf Fäulnissvorgänge ausserhalb des Organismus. Z. phys. Ch XVI. 464. *116*.

1652/53) v. **Wittich**, Ueber eine neue Methode z. Darstellung künstl Verdauungsflüssigkeiten. Pflüg. Arch. II. 193; III. 339. *94*. *131*. [illegible]

1654) v. **Wittich**, Weitere Mittheilungen über Verdauungsfermente. I. Diastatische Fermente im Thierkörper. Pflüg. Arch. III. 341. [illegible]

1655) v. **Wittich**, Das Pepsin u. seine Wirkung auf Blutfibrin. Pflüg. Arch. V. 435. *94*. *97*. *104*

1656/57) v. **Wittich**, Weitere Mittheilungen über Verdauungsfermente. — Ueber die Pepsinwirkung der Pylorusdrüsen. Noch einmal die Pylorusdrüsen. Pflüg. Arch. VII. 18; VIII. 444. *97*.

1658) v. **Wittich**, Ueber das Leberferment. Pflüg. Arch. VII. 28. [illegible]

1659) **Wittmack**, Ueber den Melonenbaum, Carica Papaya, besonders über den Blüthenbau und die äusserst energische, auflösende, fermentartige Wirkung des Milchsaftes auf Eiweisskörper. Sitz.-Ber. d. Ges. naturforsch. Freunde. Berlin **1878**. 40. *149*.

1660) **Wittmack**, Die pepsinartigen Wirkungen des Milchsaftes von Carica Papaya. Vers. der Naturf, u. Aerzte **1879**. 222. *152*.

1661) Wolberg, Ueber den Einfluss einiger Salze und Alkaloide auf die Verdauung. Pflüg. Arch. 22. 291 (1880). *108.*
1662) Wolffhügel, Ueber Pepsin und Fibrinverdauung ohne Pepsin. Pflüg. Arch. VII. 188. *97. 103.*
1663) Wood, (Choleravibrio) cit. n. Green. Ann. of botan. VII. 120. *223.*
1664) Wortmann, Diastatisches Ferment der Bacterien. Z. phys. Ch. VI. 287 (1882). *83. 224.*
1665) Wortmann, Bildung und Umwandlung der Stärke in den Pflanzenzellen. Z. phys. Ch. VI. 324. *42. 208. 222.*
1666) Wortmann, Untersuchungen über reine Hefen. II. Landw. Jb. 23 (1894). 535. *332.*
1667) Wortmann, Anwendung reiner Hefen in der Weinbereitung. Berlin. 1895. *332.*
1668) Wortmann, Die pflanzlichen Verdauungsprocesse. Biol. Cbl. III. 263. *241. 261.*
1669) Wortmann, Ueber d. Nachweis, das Vorkommen u. die Bedeutung des diastatischen Enzyms in den Pflanzen. Botan. Ztg. 48. Nr. 37. *220.*
1670) Wright, Lecture on tissue or cellfibrinogen. Lancet. 1892. I. 457. 515. *191.*
1671) Wróblewski, Beiträge z. Kenntn. d. Frauencaseïns u. seiner Unterschiede von Kuhcaseïn. Diss. Bern. 1894. *118.*
1672) Wróblewski, Notiz über das Verhalten der Sulfocyansäure zu den Magenfermenten. Chem. Ber. 28. 1719 (1895). *108. 183.*
1673) Wróblewski, Zur Kenntniss des Pepsins. Z. physiol. Ch. 21. 1 (1895/96). *103. 107. 108.*
1674) Wróblewski, Ueber die chemische Beschaffenheit der Diastase und über die Bestimmung ihrer Wirksamkeit unter Benützung löslicher Stärke, sowie über ein in den Diastasepräparaten vorhandenes Araban. Z. phys. Ch. 24. 173. *203. 204. 205.*
1675) Wróblewski, Ueber die chemische Beschaffenheit der amylolytischen Fermente. Chem. Ber. 31. 1132 (1898). *204. 223. 252.*
1676) Wróblewski, Ueber den Buchner'schen Hefepresssaft. Cbl. f. Phys. XIII. 284 (1899). *306.*
1677) Wróblewski, Bednarski u. Wojczinski, Zur Kenntn. d. Einw. d. Enzyme auf einander. Hofm. Beitr. I. 289 (1901). *44.*
1678) Wurster, Ueber einige empfindliche Reagentien zum Nachweise minimaler Mengen activen Sauerstoffs. Chem. Ber. XIX. 3195 (1886). *348.*
1679) Wurtz, Repert. d. Chim. pure. 1861. *325.*
1680) Wurtz, Sur la papaïne; contribution à l'histoire des ferments solubles. C. R. 90. 1379 (1880). *150.*
1681) Wurtz, Sur la papaïne. Nouvelle contribution à l'histoire des ferments solubles. C. R. 91. 787. *150.*
1682) Wurtz et Bouchut, Sur le ferment digestif du Carica papaya. C. R. 89. 425 (1879). *150.*

1683) Yoshida, Chemistry of Lacquer (Urushi). Journ. chem. Soc. 43. 472 (1883). *365.*

1684) Zanier, Ueber das Verhalten der Hämodiastase im Hungerzustand. Maly's Jb. 26. 212. *236.*
1685) *Zapolski, Hoppe-Seyler's med.-chem. Unters. IV. *41.*
1686) v. Zeynek, Ueber d. d. Pepsinsalzsäure aus Oxyhämoglobin entst. Hämatin. Z. phys. Ch. 30. 126 (1900). *119.*

1687) **Zickgraf**, Die Oxydation des Lysins. Chem. Ber. 35. 3401 (1902). *137.*

1688) **Zopf**, Oxalsäuregährung (an Stelle von Alkoholgährung) bei einem typischen (endosporen) Saccharomyceten. Ber. d. d. bot. Ges. 1889. 94. *374.*

1689) **Zulkowsky** u. **König**, (Diastase). Wiener acad. Sitzb. Math.-nat. Kl. 71. II. 453. *202.*

1690) E. **Zunz**, Die fraction. Abscheidung d. pept. Verdauungsproducte. Z. phys. Ch. 27. 219. *114.*

1691) E. **Zunz**, Ueber den quantitativen Verlauf der peptischen Eiweissspaltung. Z. phys. Ch. 28. 172 (1899). *114. 116.*

1692) E. **Zunz**, Weitere Untersuchungen über den Verlauf der peptischen Eiweissspaltung. Hofmeister's Beitr. II. 435 (1902). *107. 110. 116.*

1693) **Zuntz** u. **Sternberg**, Ueber den Einfluss des Labferments auf die Verdauung des Milcheiweisses. Engelm. Arch. f. Phys. 1900. 362. *175.*

1694) **Zweifel**, Untersuchungen über den Verdauungsapparat der Neugeborenen. Berlin 1874. *229.*

Verzeichniss der häufigsten Abkürzungen.

Amer. Chem. J. = American Chemical Journal.
Ann. de Chim. = Annales de Chimie.
Ann. Chim. Phys. = Annales de Chimie et Physique.
Ann. Chem. Pharm. } = Liebig's Annalen der Chemie und Pharmacie.
Lieb. Ann. }
Ann. Pharm. Chim. = Annales de Pharmacie et Chimie.
Ann. Inst. Past. = Annales de l'Institut Pasteur.
Arch. d. phys. = Archives de physiologie.
Arch. f. exp. Path. = Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie.
Arch f. Hyg. = Archiv f. Hygiene.
Arch. f. klin. Med. = Archiv für klinische Medicin.
Biol. Ctbl. = Biologisches Centralblatt.
Buil. Soc. Chim. = Bulletins de la société chimique Paris.
C. f. Bact. = Centralblatt für Bacteriologie.
C. f. Phys. = Centralblatt f. Physiologie.
C. med. Wiss. = Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften.
Chem. Ber. = Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft.
Chem. Centrbl. = Chemisches Centralblatt.
C. R. = Comptes rendus de l'Academie des scienses.
Du Bois Arch. = Archiv für Anatomie und Physiologie. Physiol. Abthlg.
Jahrb. wiss. Bot. = Pringsheim's Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik.
Journ. Chem. Soc. = Journal of the Chemical Society London.
J. of phys. = Journal of physiology.
J. pr. Ch. = Journal für praktische Chemie.
Koch's Jb. = A. Koch's Jahresbericht üb. d. Fortschr. aut d. Gebiete d. Gährungsorganismen.
Landw. Jb. = Landwirthschaftliche Jahrbücher von Thiel.
Landw. Vers. = Landwirthschaftliche Versuchsstationen.
Maly's Jb. = Maly's Jahresbericht für Thierchemie.
N. F. = Neue Folge.
Pflüg. Arch. = Pflüger's Archiv für die gesammte Physiologie.
Phil. Trans. = Philosophical Transactions cf the Royal Society.
Proc. Roy. Soc. = Proceedings of the Royal Society London.
S.-A. = Separatabdruck.
Scand. Arch. f. Phys. = Scandinavisches Archiv f. Physiologie.
Schmidt's Jb. = Schmidt's Jahrbuch f. die gesammte Medicin.
Soc. Biol. = Compt. rend. de la soc. d. biologie. Paris.
Z. f. Biol. = Zeitschrift für Biologie.
Z. klin. Med. = Zeitschrift für klinische Medicin.
Z. phys. Ch. = Zeitschr. für physiologische Chemie.
Z. ges. Brauw. = Zeitschr. für das gesammte Brauwesen.
Virch. Arch. = Virchow's Archiv f. Pathologie.

Druck von August Pries in Leipzig.

